



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

Comparación de un agar sangre modificado y pruebas rápidas spot con un medio cromogénico para la identificación presuntiva de uropatógenos-Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé”

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

AUTOR

Miguel Ángel OSORIO JAMANCA

ASESOR

Carlos Raúl SEVILLA ANDRADE

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Osorio M, Sevilla C. Comparación de un agar sangre modificado y pruebas rápidas spot con un medio cromogénico para la identificación presuntiva de uropatógenos- Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé” [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2020.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	“—”
DNI o pasaporte del autor	40015020
Código ORCID del asesor	0000-0001-9938-9922
DNI o pasaporte del asesor	16009552
Grupo de investigación	“—”
Agencia financiadora	País de la agencia financiadora Nombre y siglas de la agencia financiadora Nombre del programa financiero Número de contrato
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	País: Perú; Departamento: Lima Coordenadas geográficas (S12°3'3.92" O77°2'56.04").
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2018-2020
Disciplinas OCDE	Tecnología médica de laboratorio http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.06.02



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina
Escuela Profesional de Tecnología Médica

"AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD"



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el Art. 113 inciso C del Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (R.R. No. 03013-R-16) y Art. 45.2 de la Ley Universitaria 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Dirección de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas

Miembros: Lic. Esther Lilia Valencia Bazalar

Mg. Norka Rossaydee Guadalupe Luarte Saldaña

Asesor : Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 28 de setiembre del 2020, siendo las 08:30 horas, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"Comparación de un agar sangre modificado y pruebas rápidas spot con un medio cromogénico para la identificación presuntiva de uropatógenos – Hospital Nacional Docente Madre Niño "San Bartolomé"**, para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Señor:

MIGUEL ANGEL OSORIO JAMANCA

Habiendo obtenido el calificativo de:

.....**18**.....
(En números)

...**DIECIOCHO**...
(En letras)

Que corresponde a la mención de:**MUY BUENO**.....

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

.....

Presidente

Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas

.....

Miembro

Lic. Esther Lilia Valencia Bazalar

.....

Miembro

Mg. Norka Rossaydee Guadalupe Luarte Saldaña

.....

Asesor de Tesis

Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade

Datos de plataforma virtual institucional del acto de sustentación: Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:

https: <https://medical-int.zoom.us/j/95505876091>

Grabación archivada en:



UNMSM

Firmado digitalmente por CORNEJO
VALDIVIA DE ESPEJO Angela Rocio
FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 30.09.2020 14:11:01 -05:00

Dedicatoria

A mis padres, Cecilio y Norberta,
por ser mi aliento y fortaleza.
A mis hermanos, Elvis, César, Doris y Blanca,
por su constante apoyo y confianza.

Agradecimientos

A mis asesores, Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade y Lic. Javier Orlando Soto Pastrana, por facilitarme las herramientas necesarias para el desarrollo de este trabajo de investigación y despejar las dudas que surgieron durante este proceso.

A María Magnolia Bazán Ramos por su amistad y apoyo durante la culminación de este trabajo de investigación.

ÍNDICE

RESUMEN	VIII
 CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	 1
1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES	3
1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.3 OBJETIVOS	5
1.4 BASES TEÓRICAS	5
 CAPÍTULO II: MÉTODOS	 17
2.1 DISEÑO METODOLÓGICO	18
2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	18
2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	18
2.1.3 POBLACIÓN	18
2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO	18
2.1.5 VARIABLES	19
2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	19
2.1.7 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS	20
2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS	25
 CAPÍTULO III: RESULTADOS	 27
 CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN	 37
 CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	 43
5.1 CONCLUSIONES	44
5.2 RECOMENDACIONES	45
 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 46
 ANEXOS	 50

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Frecuencia de identificación de uropatógenos en agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y en un medio cromogénico.
- Tabla 2.** Concordancia de identificación entre el agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el método de identificación de referencia.
- Tabla 3.** Concordancia de identificación entre el método de medio cromogénico y el método de identificación de referencia.
- Tabla 4.** Concordancia de identificación presuntiva entre método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y método de medio cromogénico.
- Tabla 5.** Comparación de la cantidad de resultados del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot con la cantidad de resultados emitidos por la identificación del método de referencia para *Escherichia coli*.
- Tabla 6.** Comparación de la cantidad de resultados del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot con la cantidad de resultados emitidos por la identificación del método de referencia para *Klebsiella pneumoniae*.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Perfil de frecuencia de identificación de uropatógenos aislados.

RESUMEN

Introducción: En la microbiología clínica tradicional se requiere de 48 a 72 horas para la identificación de los microorganismos. Es por ello que en este estudio se emplea un agar sangre modificado en el urocultivo como alternativa para una rápida identificación presuntiva de las colonias bacterianas, tras efectuar sobre ellas pruebas rápidas tipo spot. **Diseño:** Observacional, descriptivo de corte transversal. **Objetivo:** Comparar un agar sangre modificado y pruebas rápidas spot con un medio cromogénico para la identificación presuntiva de uropatógenos. **Métodos:** Se estudiaron un total de 174 microorganismos. Los uropatógenos aislados del agar sangre modificado fueron sometidos a un algoritmo corto para su identificación mediante el uso de pruebas rápidas tipo spot: spot indol, spot fenilalanina desaminasa, spot ureasa, spot esculina y spot fosfatasa; y la identificación con las pruebas rápidas fueron comparadas con la identificación de un medio cromogénico. Se empleó el sistema automatizado Vitek® 2 Compact como método de identificación de referencia. **Resultados:** De los 174 uropatógenos identificados por el método de referencia, 145 (83,33%) fueron *Escherichia coli*, 14 (8,05%) fueron *Klebsiella pneumoniae*, 7 (4,02%) fueron *Proteus mirabilis*, 5 (2,87%) fueron *Enterococcus faecalis* y 3 (1,73%) fueron *Staphylococcus saprophyticus*. Por otro lado, el agar sangre modificado más pruebas rápidas spot y el agar cromogénico, ambos identificaron: 141 (81,03%) *Escherichia coli*, 14 (8,05%) *Klebsiella pneumoniae*, 7 (4,02%) *Proteus mirabilis*, 5 (2,87%) *Enterococcus faecalis*, 2 (1,15%) *Staphylococcus saprophyticus* y 5 (2,87%) no fueron identificados. Comparando la identificación por el método agar sangre modificado más pruebas rápidas spot y el método medio cromogénico se obtuvo un 100% de concordancia. **Conclusiones:** El agar sangre modificado más las pruebas rápidas spot son tan útiles en comparación con el medio cromogénico para la identificación de uropatógenos aislados en los urocultivos del Hospital San Bartolomé. **Palabras claves:** Agar sangre modificado, medio cromogénico, uropatógeno, spot indol, spot fenilalanina desaminasa, spot ureasa, spot fosfatasa, spot esculina.

ABSTRACT

Introduction: In Traditional clinical microbiology it takes from 48 to 72 hours from culture to microorganisms' identification. Accordingly, in this study a modified blood agar is used in urine culture as an alternative for a quick presumptive identification of bacterial colonies once spot type quick tests have been done. **Design:** Observational, descriptive cross-sectional study. **Objective:** Compare a modified blood agar and spot type quick tests with a chromogenic media for the presumptive identification of uropathogens. **Methods:** 174 microorganisms were studied. The uropathogens of modified blood agar were subjected to a quick sort algorithm for their identification by using the spot type quick tests: indole spot, spot phenylalanine deaminase, spot urease, esculin spot and phosphatase spot and they were compared to the chromogenic media identification. The Vitek® 2 Compact Automated System was used as the reference identification method. **Results:** From 174 uropathogens identified by the reference identification method, 145 (83, 33%) were *Escherichia coli*, 14 (8,05%), were *Klebsiella pneumoniae*, 7 (4,02%) were *Proteus mirabilis*, 5 (2,87%) were *Enterococcus faecalis* and 3 (1,73%) were *Staphylococcus saprophyticus*. On the other hand, the identification by using the modified blood agar plus the *spot* type quick test and the chromogenic agar, both identified: 141 (81,03%) *Escherichia coli*, 14 (8,05%) *Klebsiella pneumoniae*, 7 (4,02%) *Proteus mirabilis*, 5 (2,87%) *Enterococcus faecalis*, 2 (1,15%) *Staphylococcus saprophyticus* and 5 (2,87%) were not identified. By comparing the identification by the modified blood agar plus the spot type quick test and the chromogenic media a 100% concordance was obtained. **Conclusions:** The modified blood agar and the spot type quick tests are as useful as the chromogenic media for the identification of isolated uropathogens at the San Bartolomé Hospital urine cultures. **Key words:** Modified blood agar, chromogenic media, uropathogen, indole spot, spot phenylalanine deaminase, spot urease, phosphatase spot and esculin spot.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las infecciones del tracto urinario representan un problema de salud pública, debido a su elevada frecuencia; tanto en el ámbito comunitario como en el hospitalario y afecta principalmente, a la población de sexo femenino^(1, 2).

Las infecciones del tracto urinario continúan siendo una de las causas más comunes de consulta médica. El diagnóstico de las infecciones urinarias se realizan mediante los urocultivos; que representan la mayor carga de trabajo en los laboratorios de microbiología⁽³⁾. Entre los uropatógenos bacterianos de mayor aislamiento en muestras de orinas de pacientes con infección del tracto urinario enviadas al laboratorio y se encuentran las enterobacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*; así mismo, uropatógenos cocos grampositivos como *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus saprophyticus*^(4, 5).

Los métodos bacteriológicos de aislamiento e identificación de uno o más microorganismos involucrados en una infección urinaria y requieren utilizar medios de cultivos sintéticos y condiciones ambientales adecuadas para favorecer su desarrollo, observar sus características morfológicas, su metabolismo microbiano, y realizar su identificación.

En la microbiología clínica tradicional se emplea de 48 a 72 horas para la identificación de los microorganismos⁽³⁾. Por esta razón, surge el interés de conocer, desarrollar y aplicar métodos de diagnóstico rápido que permitan reducir el tiempo de obtención de los resultados. Actualmente, existen en el comercio varios de estos sistemas de diagnóstico rápido como los manuales para identificación microbiana: Enterotube, API 20E y CHROMagarTM Orientation; y los automatizados: MicroScan WalkAway System, Vitek® 2 Compact y Phoenix. Estos sistemas comerciales se encuentran disponibles en países desarrollados; pero en el Perú, tienen un elevado costo de importación.

Por muchos años, el aislamiento primario de las colonias sospechosas se ha realizado en los medios de cultivo estándar, siendo para el urocultivo los siguientes agares: sangre, Mac Conkey y CLED (cistina, lactosa, deficiente de electrolitos)^(3, 6).

El agar sangre es considerado el medio óptimo para el aislamiento y recuento de colonias bacterianas patógenas de muestras de orina; sin embargo, permite muy poca diferenciación entre los microorganismos y falla cuando crecen colonias invasoras de especies de *Proteus*, lo cual produce el fenómeno de swarming con desarrollo invasor. Por otro lado, el agar Mac Conkey y el agar CLED impiden el fenómeno swarming del *Proteus*; pero su capacidad de diferenciación es poca, pues solo diferencia a las colonias fermentadoras de lactosa de las no fermentadoras^(7, 8).

En los últimos años varios medios cromogénicos han sido desarrollados y comercializados permitiendo una identificación directa y eficiente de los uropatógenos en las placas de cultivo; sin embargo, debido a su relativo alto costo es poco usado en los laboratorios de microbiología⁽⁷⁾.

1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES

Existe la necesidad de que los medios de aislamiento primario utilizados en el urocultivo permitan la identificación presuntiva de estas bacterias y estén al alcance de la mayoría de los laboratorios. La combinación de diferentes sustratos en un medio de cultivo puede hacer posible la detección de forma simultánea de reacciones enzimáticas específicas y llegar rápidamente a una identificación presuntiva de las colonias bacterianas, tras efectuar sobre ellas pruebas rápidas.

En los procedimientos microbiológicos se han desarrollado diversos métodos de identificación bacteriana, incluyendo métodos rápidos que son sensibles y específicos para el diagnóstico de bacterias gramnegativas y grampositivas. En relación con estos métodos de identificación, Miller et al.⁽⁹⁾, evaluaron cuatro reactivos útiles para detectar la producción de indol, y demostraron que su uso en colonias provenientes de agar sangre o agar tripticasa de soya son los más apropiados para la detección de la producción de indol en el cultivo de bacilos gramnegativos. Por otro lado, Qadri et al.⁽¹⁰⁾, evaluaron una prueba rápida para la determinación de la actividad de la ureasa. Concluyeron que esta prueba rápida tiene similitud con la prueba convencional de agar urea de Christensen y la actividad de la ureasa en la tarjeta Vitek Enterobacteriaceae. Así mismo, Pickett et al.⁽¹¹⁾, determinaron la actividad de la fosfatasa para diferenciar estafilococos fosfatasa negativos de los positivos. El difosfato de fenoltaleína se

incorporó en el medio de agar con sangre para su uso en cultivo de orina; los estafilococos negativos a la fosfatasa, como el *Staphylococcus saprophyticus*, se diferenciaron de las especies positivas a la fosfatasa mediante una prueba con papel filtro saturado en NaOH 1N. Salas et al.⁽¹²⁾, utilizaron la esculina en la identificación de enterobacterias. Esta prueba tiene un valor alto de clasificación para *Klebsiella pneumonia* y *Streptococcus gamma-hemolítico*. Por otra parte, Giammanco et al.⁽¹³⁾, enriquecieron dos medios comerciales con aminoácidos para ser usados en las pruebas fenilalanina e indol; demostraron que fue altamente eficiente para hacer una identificación presuntiva a nivel de especies de uropatógenos más comunes como *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*. También, York et al.⁽¹⁴⁾, publicaron un algoritmo para la validación de pruebas rápidas tipo spot para *Escherichia coli*, evaluando beta hemolisis, la prueba del PYR (L-pirrolidonil-beta-naftilamida), la prueba de MUG (4-metilumbeliferil-beta-D-glucurónido), y buscando una identificación en menor tiempo y costo. De forma similar, Soto et al.⁽¹⁵⁾, emplearon un nuevo agar sangre con el objetivo de identificar *Staphylococcus saprophyticus* en urocultivos, empleando agar sangre fosfatasa y la prueba spot fosfatasa con NaOH 1N. Concluyeron que el agar sangre fosfatasa es un medio rápido y efectivo para el tamizaje de *Staphylococcus saprophyticus* de aislamientos de estafilococos coagulasa negativo en urocultivo. Asimismo, Castro et al.⁽¹⁶⁾, compararon diferentes métodos para identificar las especies del género *Proteus*, teniendo como objetivo identificar a nivel de especie los aislamientos de *Proteus*; basados en la combinación de los esquemas de Famer y O'Hara, mostraron que el 100% (87/87) de aislamientos de *Proteus mirabilis* dieron positivo a las pruebas bioquímicas de fenilalanina desaminasa.

1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Durante el aislamiento primario, las pruebas rápidas spot utilizando colonias sospechosas en agar sangre modificado permitirán la identificación de uropatógenos de manera rápida y a bajo costo en comparación con los métodos de identificación bioquímica, que tardan aproximadamente más de 48 horas, o la automatizada que tiene alto costo. Por consiguiente, se tendrá la identificación rápida del microorganismo causante de la infección mediante pruebas spot, esto brindará información al clínico para la toma de medidas pertinentes.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar el agar sangre modificado-pruebas rápidas spot con un medio cromogénico para la identificación presuntiva de uropatógenos en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar uropatógenos aislados en el agar sangre modificado-pruebas rápidas spot.
- Comparar la frecuencia de identificación presuntiva del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el método de medio cromogénico.
- Determinar la concordancia en la identificación de uropatógenos entre el agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el medio cromogénico.

1.4 BASES TEÓRICAS

1.4.1 BASE TEÓRICA

1.4.1.1 INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO

Las infecciones del tracto urinario (ITU) figuran entre las enfermedades infecciosas más prevalentes en la atención primaria en salud y en el medio intrahospitalario; además, suponen una carga económica para la sociedad ^(1, 5). La invasión del aparato urinario sano está restringida a un grupo de microorganismos conocidos como uropatógenos, que pueden infectar al ser humano con un mecanismo de defensa inmunitario disminuido ^(2, 6). La infección del tracto urinario consiste en la presencia de microorganismos patógenos a lo largo de las vías urinarias ^(1, 17). Se denomina pielonefritis si la infección afecta al riñón y a la pelvis renal; y cistitis si infecta a la vejiga ^(1, 18). Las infecciones más habituales son de origen bacteriano; la bacteria *Escherichia coli*, que se localiza normalmente en el intestino, es la responsable del 75 a 80% de los casos; y el 25 a 20% restante incluye microorganismos como: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Enterococcus faecalis* ^(1, 2, 4, 5, 19).

La prevalencia de las ITU varía según la edad, el sexo y la existencia de anomalías genitourinarias. En la mujer, la frecuencia de ITU en niñas de 5 a 14 años es del 1%; luego del inicio de la actividad sexual en la mujer adulta sube a 4%; incrementándose un 2% cada 10 años de vida⁽²¹⁾. Otros factores que pueden correlacionarse con la prevalencia de ITU son la actividad sexual, la diabetes mellitus tipo II y el embarazo. En varones niños y jóvenes la ITU es poco frecuente, su incidencia aumenta a partir de los 50 años y está relacionada con la obstrucción causada por inflamación de la próstata^(2, 5, 18, 20).

1.4.1.2 FACTORES PREDISPONENTES

Los factores que favorecen al padecimiento de una infección del tracto urinario son variables y fundamentalmente se encuentran asociados con la edad, alteraciones anatómicas y fisiológicas, hábitos sexuales y uso permanente de catéter urinario^(1, 21).

1.4.1.3 UROCULTIVO

El urocultivo es el cultivo de orina que permite diagnosticar la infección del tracto urinario en pacientes con riesgo de infección. Se basa en la presencia de un número significativo de bacterias, generalmente mayor de 10^5 UFC/mL. También, la piuria y la bacteriuria son datos de trascendencia para el diagnóstico de infección del tracto urinario, debido a que están presentes en todas las infecciones urinarias. A su vez, se tiene como excepción a la bacteriuria asintomática, en la que la piuria puede estar ausente^(4-6, 8).

En el urocultivo cuantitativo, la siembra de la orina se realiza con asas calibradas de 0,001 mL; después de incubar por 24 horas a 37 °C, se realiza la lectura de las placas contando el número de unidades formadoras de colonias. Según los criterios de Kass, un recuento mayor a 10^5 UFC/mL implica que existe infección urinaria y un recuento menor a 10^3 UFC/mL podría significar que no existe infección^(3, 6, 8, 22, 23). La identificación de microorganismos se realiza mediante la observación del aspecto de las colonias y la realización de pruebas metabólicas y bioquímicas convencionales. Hay sistemas automatizados como el Vitek® 2

Compact que pueden simplificar la identificación de microorganismos dentro de las 8 horas ⁽¹⁸⁾.

1.4.1.4 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

La orina es un líquido transparente y amarillento secretada por los riñones que tiene como función eliminar los residuos tóxicos del organismo, regular y controlar los mecanismos fisiológicos. En condiciones normales es aséptica; esto es, que está libre de microorganismos. Aunque, en situaciones no normales la orina puede contener bacterias, condición conocida como bacteriuria ^(4, 8).

La obtención de una adecuada muestra es de gran importancia para el procesamiento del urocultivo; ya que el riesgo de contaminación con bacterias propias de la piel del periné y de la uretra es muy alto y puede inducir a emitir un resultado falso positivo. Preferentemente se debe obtener la primera orina de la mañana y de no ser posible, el paciente debe retener la orina en la vejiga durante 4 horas. La orina se puede obtener usando los siguientes métodos: orina de segundo chorro, mediante recolector, a través de catéter vesical permanente, punción vesical o cateterización vesical. Debido a que la orina puede servir como un medio de cultivo que favorece la multiplicación de microorganismos, la muestra debe procesarse antes de las 2 horas de su obtención ^(4, 8, 23, 24).

1.4.1.5 PRUEBAS DE TAMIZAJE

Se considera al urocultivo como la prueba estándar para el diagnóstico de infección del tracto urinario; sin embargo, se han desarrollado técnicas como la prueba de nitritos y la coloración Gram. La prueba de nitritos es un método rápido e indirecto para el diagnóstico de bacteriuria. Todas las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* realizan la reducción de los nitratos a nitritos; siempre que la orina se concentre en la vejiga durante un mínimo de cuatro horas. La primera orina de la mañana es la ideal, y debe hacerse la prueba inmediatamente después de emitir la orina para evitar contaminación. Un resultado negativo sin crecimiento bacteriano no debe interpretarse como ausencia de infección bacteriana ^(18, 24). La tinción Gram permite la detección directa de bacteriuria y piuria, cuya presencia proporcionarán un diagnóstico

presuntivo de ITU ^(4, 5, 24). La coloración Gram es un método rápido, económico, sensible y específico para detectar bacteriuria. Si al colorear 0,01 mL de orina sin centrifugar, se observa en la lámina la presencia de una bacteria por campo visto en el microscopio con objetivo de inmersión, esto tiene una correlación mayor de 10^5 UFC/mL ^(6, 7, 22, 23).

1.4.1.6 MEDIOS DE CULTIVO

Todas las bacterias requieren nutrientes necesarios para su crecimiento; necesitan agua, anhídrido carbónico, fósforo, sales minerales, nitrógeno y azufre. El medio de cultivo utilizado debe tener la capacidad de detectar la presencia de uropatógenos y de la flora comensal que va sugerir que existe una contaminación de la muestra. Los cultivos de orina pueden hacerse en agar sangre, también en medios selectivos y diferenciales como el agar CLED, el Mac Conkey y medios cromogénicos. El agar CLED ayuda a diferenciar a los microorganismos lactosa positivo y evita el fenómeno de swarming del *Proteus*. Los medios cromogénicos contienen sustratos para enzimas específicas. Estas enzimas transforman a los sustratos, cambiando de color como consecuencia de la transformación química de la parte cromógena, que cambia de estructura, produciendo un cromóforo ^(3, 4, 6, 7, 23).

La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y en la diferenciación de los microorganismos. Para la observación morfológica es preferible examinar colonias de cultivos frescos crecidas en medios no selectivos. Las bacterias producen distintas características durante su crecimiento en los diferentes medios de cultivo primario, estas características pueden ser: colonias mucoides, pigmentación, hemólisis, variedad en el tamaño, fenómeno de swarming entre otros. ^(8, 10).

1.4.1.7 IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

En la práctica de la microbiología clínica con el objetivo de identificar a las especies de uropatógenos se utilizan técnicas y métodos fenotípicos como las pruebas bioquímicas, los medios cromogénicos y el uso de sistemas automatizados.

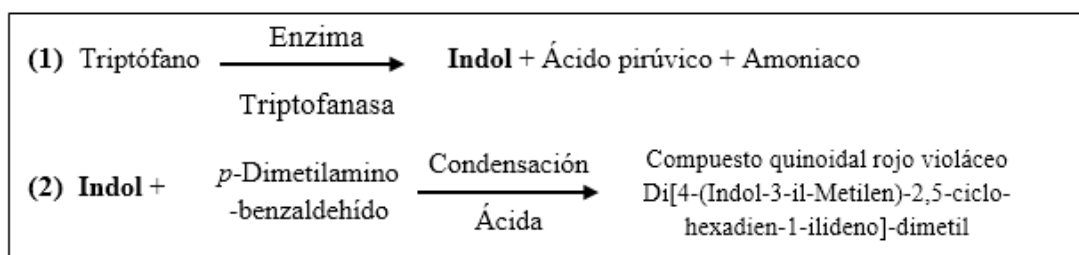
Pruebas bioquímicas aplicadas a las pruebas spot

Las Pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias y, en base a estas, realizar su identificación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48 horas; en este grupo se encuentra la mayoría de las pruebas con capacidad de poner en evidencia elementos metabólicos y mostrar la sensibilidad de un microorganismo frente a sustancias específicas tras su cultivo en medios de identificación a los que se le ha adicionado el sustrato a metabolizar. Las principales pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de uropatógenos son: indol, fenilalanina desaminasa, ureasa, esculina y fosfatasa.

- Prueba del indol

El indol resulta de la desaminación reductiva del aminoácido triptófano, siendo su principal intermediario el ácido indolpirúvico. Cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del *p*-dimetilaminobenzaldehído se forma un complejo de color rojo, para esto el medio a utilizarse debe ser rico en triptófano. La prueba de la mancha, también conocida como tipo spot, emplea tiras de papel filtro embebida con el reactivo *p*-dimetilaminobenzaldehído; esta es eficiente para la detección rápida de bacterias que produzcan indol. Si se observa color rojo sobre el papel filtro, indica que la prueba es positiva^(18, 25).

Mecanismo de reacción del indol

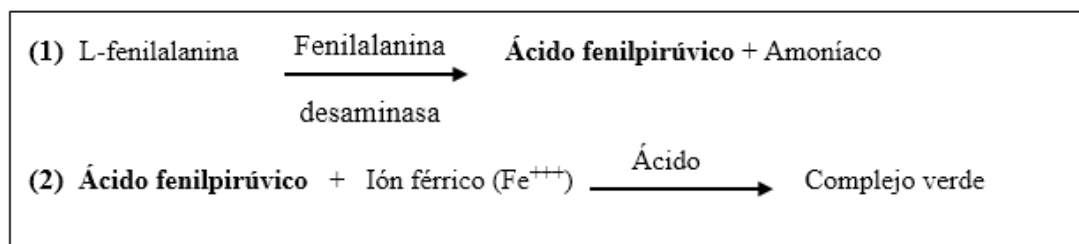


Fuente: Faddin M. 1990⁽²⁵⁾

- Prueba de la fenilalanina desaminasa (FAD)

Se produce la desaminación oxidativa del aminoácido aromático fenilalanina generado por un aminoácido oxidasa para dar como producto ácido fenilpirúvico y amoníaco. En la familia *Enterobacteriaceae*, los que poseen la enzima desaminasa necesaria para esta desaminación son únicamente los miembros del género *Proteus*, *Morganella* y *Providencia*. La prueba de fenilalanina desaminasa se basa en la detección de ácido fenilpirúvico presente en el medio, después del crecimiento de los microorganismos en estudio; la prueba es positiva si se observa un color verde después de adicionar una solución de cloruro férrico al 10% ^(18, 25).

Mecanismo de reacción de la fenilalanina desaminasa

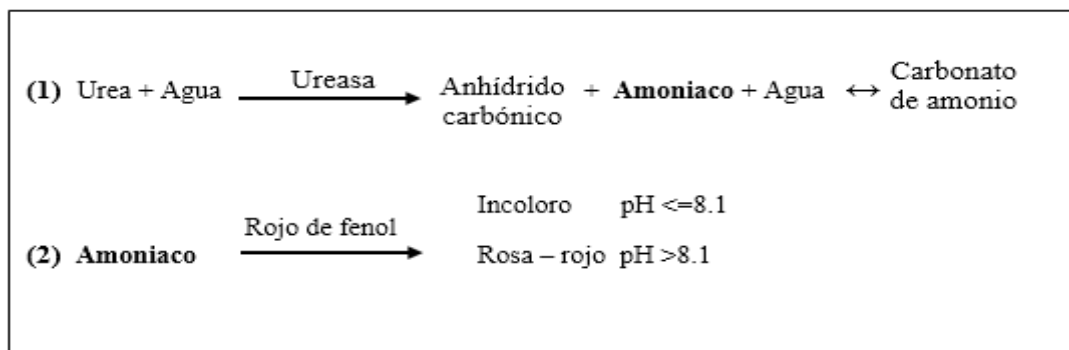


Fuente: Faddin M. 1990⁽²⁵⁾

- Prueba de la ureasa

Por la hidrólisis de la urea se produce amoníaco y dióxido de carbono, siendo su producto final el carbonato de amonio. El amoníaco produce alcalinización y aumento de pH del medio ^(18, 25).

Mecanismo de reacción de la ureasa

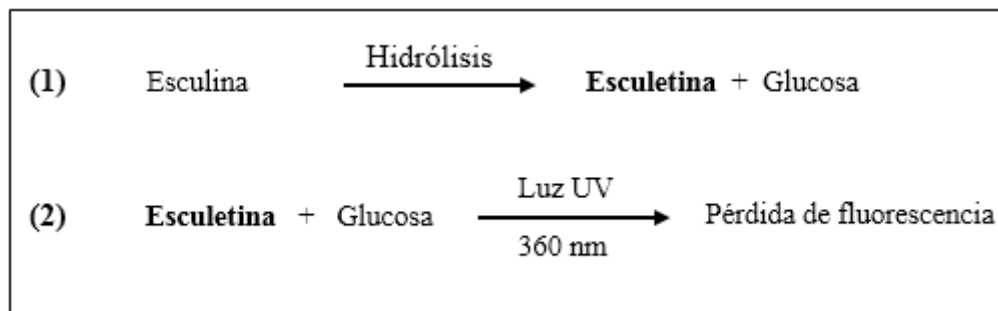


Fuente: Faddin M. 1990⁽²⁵⁾

- Prueba de la esculina

Ciertas bacterias hidrolizan la esculina para producir glucosa y esculetina. Esta última produce fluorescencia cuando es expuesta a una lámpara de luz ultravioleta a 360 nm, pero no son fluorescentes ni la glucosa ni la esculetina. La hidrólisis de la esculina es señalada por la pérdida de su fluorescencia en presencia de la bacteria ^(18, 25).

Mecanismo de reacción de la esculina



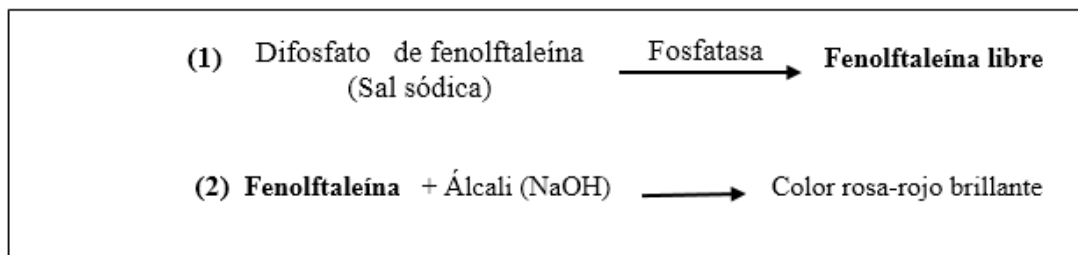
Fuente: Faddin M. 1990⁽²⁵⁾

- Prueba de la fosfatasa

La producción de la fosfatasa está determinada por la liberación de fenolftaleína, que está indicada por un cambio de color en el medio. La fenolftaleína liberada reacciona con un álcali para dar un color rosa-rojo brillante.

La ftaleína es un compuesto de anhídrido ftálico con un fenol o un derivado fenólico que contiene un anillo lactona de cinco lados. El anhídrido ftálico combinado con dos moléculas de fenol forma el compuesto fenolftaleína. En la prueba de la fosfatasa, cuando la fenolftaleína es neutralizada el álcali se une al grupo C=O rompiendo el anillo lactona y forma una estructura quinoide en uno de los anillos bencenos; la presencia de la estructura quinoide confiere al compuesto el color rosa-rojo ^(14, 16, 25).

Mecanismo de reacción de la fosfatasa



Fuente: Faddin M. 1990⁽²⁵⁾

Medios cromogénicos

La finalidad de los medios cromogénicos es identificar correctamente bacterias y levaduras a partir del cultivo primario, sin más pruebas o con un número mínimo de pruebas confirmatorias. Las enzimas producidas por ciertos microorganismos hidrolizarán los sustratos presentes en los medios cromogénicos. Los medios cromogénicos identifican, rápidamente y con una alta sensibilidad, cocos grampositivos y enterobacterias ⁽²⁶⁾. Por lo tanto, los sustratos enzimáticos cromogénicos son compuestos que actúan como sustratos para enzimas específicas y cambian de color debido a la acción de la enzima sobre el sustrato ⁽¹⁸⁾.

Sistema automatizado Vitek® 2 Compact

El sistema automatizado Vitek® 2 Compact del laboratorio BioMérieux, como sistema automatizado, realiza la identificación bacteriana y el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana. Mediante la inoculación de una suspensión de microorganismos en tarjetas de identificación conteniendo paneles de reacción bioquímicas, se realiza su identificación ⁽²⁷⁾.

El sistema Vitek en sus primeras versiones utilizaba tarjetas llamadas *Enterobacteriaceae*-más Biochemical Card (EBC+), las cuales al ser inoculadas con bacterias, permitían la identificación automática de enterobacterias tras una incubación de 8 horas. Posteriormente, se diseñaron dos tarjetas con sustratos específicos que identificaban bacterias gramnegativas y grampositivas; esto

permitió el reconocimiento de un mayor número de especies, con mayor velocidad de identificación y mejor desempeño ⁽¹⁸⁾.

1.4.1.8 UROPATÓGENOS DE MAYOR FRECUENCIA

Según el mapa microbiológico 2010 del Hospital Nacional Docente Madre Nino San Bartolomé, los uropatógenos de mayor frecuencia presentaron el siguiente porcentaje de frecuencia: 72% de *Escherichia coli*, 7% de *Klebsiella pneumoniae*, 4% de *Proteus mirabilis*, 4% de *Staphylococcus saprophyticus*, 3% de *Enterococcus faecalis*, 2% de *Candida albicans*, 2% de *Pseudomonas aeruginosa* y 6% de otros microorganismos.

Escherichia coli

La *Escherichia coli* es un microorganismo causante de sepsis, shock inducido por endotoxinas, ITU, neumonía en pacientes inmunodeprimidos hospitalizados, meningitis en neonatos y otras infecciones⁽¹⁸⁾. En la identificación bioquímica de *Escherichia coli* se destaca la presencia de 98% de positividad para la producción de indol, 95% para la fermentación de la lactosa, 100% en la reducción de nitrato a nitrito, 1% de hidrólisis de urea, 0% para la desaminación de la fenilalanina, y 35% en cuanto a la hidrólisis de esculina⁽²⁸⁾.

Klebsiella pneumoniae

El género *Klebsiella* se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales. La *Klebsiella pneumoniae* es el principal patógeno de este género; se halla con mayor frecuencia en muestras clínicas y puede ser causa de una forma clásica de neumonía primaria. *Klebsiella pneumoniae* puede causar infección extrapulmonar, meningitis, infecciones de la vías urinarias y septicemia. En la bioquímica característica para la identificación de esta especie se presenta 0% de positividad de indol, 99% de hidrólisis de esculina y 95% de hidrólisis de urea ⁽¹⁸⁾.

Proteus mirabilis

Proteus mirabilis es considerado patógeno de interés del tracto urinario y principal agente infeccioso en pacientes con catéter urinario permanente. Este microorganismo gramnegativo posee capacidad de movimiento alargado y se extienden rápidamente; cuando es cultivado en agar sangre aparece el fenómeno de swarming, siendo capaz de colonizar toda la placa dentro de las 24 horas. Las características bioquímicas de *Proteus mirabilis* son: el 98% posee la enzima fenilalanina desaminasa, que es útil para la diferenciación inicial de *Proteus*, utiliza el citrato y el 98% hidroliza la urea; además, no produce indol ni fermenta lactosa ⁽¹⁸⁾.

Staphylococcus saprophyticus

El *Staphylococcus saprophyticus* es una especie coagulasa negativa que causa infecciones urinarias agudas, sobre todo en mujeres sanas y jóvenes sexualmente activas. En los esquemas tradicionales de identificación de estafilococos coagulasa negativo, se reporta que la actividad de la fosfatasa es positiva para *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus xylosus*, y es negativo para *Staphylococcus saprophyticus*; además, este último es coagulasa negativo, hidroliza la urea y es resistente a la novobiocina ⁽¹⁸⁾.

Enterococcus faecalis

Los enterococos crecen en zonas del cuerpo humano con gran contenido de nutrientes, pero con mínima concentración de oxígeno. Son organismos relativamente resistentes; persisten como contaminantes en el ambiente hospitalario, en las manos, en la ropa de cama, en el aerosol fecal y en otras fuentes contaminadas ⁽¹⁸⁾. En los últimos años ha aumentado la incidencia de infecciones intrahospitalarias por *Enterococcus faecalis*, siendo causante de morbilidad en áreas clínicas y quirúrgicas. Se considera que este microorganismo tiene como reservorio al 80% de personas hospitalizadas y es responsable del 16% de infecciones del tracto urinario ⁽²⁹⁾. Como características bioquímicas presenta: hemólisis variable, telurito positivo, crecimiento a 10 °C y a 45 °C (no crece a 51 °C), tolerante al 6,5% de NaCl; crece a pH básico y en 40% de bilis. Posee enzimas que hidrolizan esculina ⁽³⁰⁾.

1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Agar sangre modificado: es el medio sólido enriquecido con sustratos adicionados al agar sangre que serán utilizados por las bacterias durante su crecimiento y que permiten detectar reacciones enzimáticas mediante la aplicación de pruebas rápidas spot con reactivos específicos.

Medio cromogénico: es un medio convencional comercial a base de sustratos cromogénicos que permiten detectar actividades enzimáticas como la β -glucoronidasa y β -galactosidasa y se usa para diferenciar a las bacterias según la reacción pigmentaria producida en el medio ^(18, 26).

Coloración Gram: es un método de tinción microbiana de gran utilidad en el estudio de la morfología bacteriana y en su diferenciación en cocos, bacilos, positivos o negativos ⁽¹⁸⁾.

Prueba de la esculina: algunas bacterias como los enterococos hidrolizan esculina para producir esculetina. En una tira de papel filtro humedecida con esculina y se adiciona sobre esta las colonias aisladas de bacterias provenientes de agar sangre modificado, la hidrólisis de esculina se manifestará como una zona oscura bajo la luz ultravioleta, caso contrario el papel filtro aparecerá fluorescente ante la luz ultravioleta ^(18, 25).

Prueba de la fenilalanina desaminasa: detecta la capacidad para desaminar el aminoácido fenilalanina en ácido fenilpirúvico mediante la actividad enzimática de fenilalanina desaminasa. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies del género *Proteus* ^(18, 25).

Prueba de la fosfatasa: determina la capacidad de un organismo de producir la enzima fosfatasa en cantidad suficiente como para desdoblar el difosfato de fenolftaleína. La fenolftaleína como indicador ácido base en medio alcalino se observa de color rosado a rojo ^(18, 25).

Prueba del indol: se basa en la formación de un complejo de color rojo, por reacción del indol con el grupo aldehído del *p*-dimetilamino benzaldehído ^(18, 25).

Prueba de nitritos: la prueba determina la capacidad de un microorganismo de reducir el nitrato en nitrito ^(18, 25).

Prueba de la ureasa: determina la capacidad de un microorganismo de desdoblar la urea para formar dos moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa ⁽¹⁸⁾.

Uropatógenos: son los microorganismos patógenos presentes en las vías urinarias ⁽⁶⁾.

1.4.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

El agar sangre modificado-pruebas rápidas spot permitirá la identificación rápida de los uropatógenos y es comparable con la identificación presuntiva en un medio cromogénico comercial.

CAPÍTULO II

MÉTODOS

2.1 DISEÑO METODOLÓGICO

2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Enfoque cuantitativo y descriptivo porque se describió la presencia de uropatógenos.

2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Es un estudio observacional y de corte transversal. La recolección de datos se realizó en un momento y lugar en la variable de interés.

2.1.3 POBLACIÓN

Muestras de orina para urocultivo de los pacientes hospitalizados y de consultorio externo procesados en el laboratorio de microbiología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, durante el periodo comprendido de enero a abril del 2011.

2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO

Para este estudio se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, considerando a las muestras de orina con bacteriuria significativa. El tamaño de muestra $n = 174$ se obtuvo mediante la fórmula general. Se consideró una prevalencia de urocultivos positivos al año de 13% que presentó el laboratorio de microbiología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé.

En este estudio se empleó un nivel de confianza de 95%, con significancia de $\alpha = 0,05$ y $Z = 1,96$. Se estimó una prevalencia hipotética de 87% ($p = 0,87$).

2.1.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Muestras de orina de pacientes ambulatorios y hospitalizados atendidos en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé durante el periodo de estudio.
- Muestras de orina que presentaron nitrito positivo o coloración Gram con presencia de bacilos gramnegativos y cocos grampositivos.
- Cultivos puros con recuento de colonias en agar sangre mayor o igual a 10^5 UFC/mL.

2.1.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Muestras de orina contenidas en bolsas colectoras.
- Cultivos que desarrollaron microbiota múltiple.
- Cultivos negativos con o sin recuento de colonias menor a 10^5 UFC/mL.
- Aislamientos cuya identificación fue diferente a uno de los 5 uropatógenos de interés para este estudio.

2.1.5 VARIABLES

- Agar sangre modificado-pruebas rápidas spot
 - ✓ Definición conceptual: agar sangre enriquecido con sustratos que serán utilizados por la bacteria durante su crecimiento y por pruebas rápidas spot que determinan la presencia de enzimas para identificación de uropatógenos.
 - ✓ Definición operacional: permite la identificación de colonias aisladas mediante la aplicación de pruebas rápidas spot.
 - ✓ Indicadores: cambio de color de papel filtro al adicionar reactivo.
- Medio cromogénico
 - ✓ Definición conceptual: medio de cultivo comercial a base de sustratos cromogénicos que permite detectar actividades enzimáticas.
 - ✓ Definición operacional: permite la identificación de la bacteria según la reacción pigmentaria producida en el medio.
 - ✓ Indicadores: presencia de color en las colonias.
- Uropatógenos
 - ✓ Definición conceptual: microorganismo patógeno presente en las vías urinarias.
 - ✓ Definición operacional: microorganismo identificado como patógeno de mayor frecuencia en urocultivos.
 - ✓ Indicadores: reporte de resultado.

2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se empleó la técnica de observación científica.

Los instrumentos empleados para la recolección de datos fueron los siguientes:

- Ficha microbiológica de recolección de datos (Anexo1); en la cual se registraron resultados de las pruebas de screening, el crecimiento de colonias en agar Mac Conkey, el crecimiento en agar sangre modificado, los resultados de pruebas rápidas spot y el crecimiento en medio cromogénico.
- Reporte de resultados de identificación del sistema automatizado bacteriano Vitek® 2 Compact.

2.1.7 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS

Para el desarrollo de este trabajo se emplearon dos métodos de identificación microbiana en urocultivos:

- El agar sangre modificado-pruebas rápidas spot, que consta de un agar sangre al que se le ha adicionado sustratos que utilizará la bacteria durante su crecimiento y de pruebas rápidas spot que detectarán reacciones enzimáticas tras la adición sobre un soporte de papel filtro de colonias bacterianas y reactivos específicos.
- El método del medio cromogénico, específicamente el medio comercial CHOMoagar™ Orientation.

PROCEDIMIENTOS

El agar sangre convencional es una combinación de agar tripticasa soya con 5% de sangre de carnero. El agar sangre modificado contiene: agar fenilalanina, como base del medio y con capacidad de producir ácido fenilpirúvico por desaminación oxidativa; agar agar, que proporciona mayor solidez al medio inhibiendo el fenómeno de swarming del *Proteus*; difosfato de fenolftaleína, que se transforma en fenolftaleína libre; la triptona, cuyo producto resultante es indol; y 5% sangre humana.

Los reactivos que se emplearon fueron: reactivo de indol, utilizado en la prueba rápida spot indol; reactivo de cloruro férrico, utilizado en la prueba rápida spot fenilalanina desaminasa; reactivo de urea, utilizado en la prueba rápida spot ureasa; reactivo de

esculina 0,02%, utilizado en la prueba rápida spot esculina; y reactivo hidróxido de sodio 1N, utilizado en la prueba rápida spot fosfatasa.

Previo al procesamiento de muestras e identificación de uropatógenos, se prepararon los medios de cultivo y los reactivos para las pruebas rápidas spot, según se detalla en el Anexo 2.

En las instalaciones del laboratorio de microbiología del Hospital San Bartolomé, se procesaron los urocultivos siguiendo el procedimiento que se describe en la Figura 1.

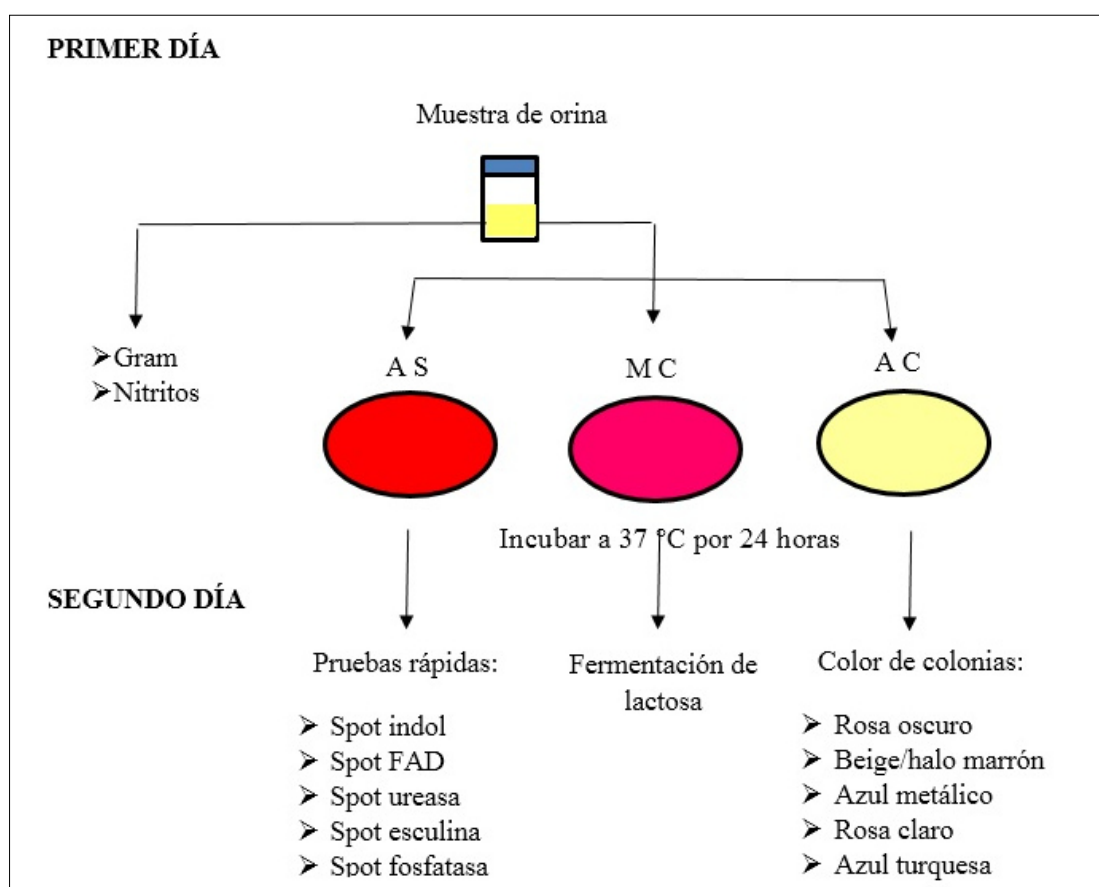


Figura 1. Flujo de procedimiento de urocultivo

• PRIMER DÍA

RECOLECCION DE MUESTRA

La recolección de muestra de orina fue realizada por el paciente siguiendo las indicaciones dadas por el laboratorio de microbiología del Hospital San Bartolomé.

Una vez procesadas las muestras de orina, según el protocolo del laboratorio de microbiología, estas fueron incluidas en el trabajo de investigación.

PRUEBAS DE TAMIZAJE

➤ Prueba del nitrito

Para la determinación de nitritos en la orina se procedió a realizar la reacción de Griess ^(18, 33). En una placa con pocillos, se colocó 50 uL del reactivo A (Ácido sulfanílico al 1%) y 50 uL del reactivo B (ácido N-dimetil- α naftilamina al 0,3%). Seguidamente, con un nuevo tip, se adicionaron 100 uL de la muestra de orina. En aquellos pocillos que presentaron un color rojo púrpura, se consideró la presencia de bacterias reductoras de nitrato y con alta probabilidad de bacteriuria significativa. Los resultados se muestran en el Anexo 3.

➤ Coloración Gram

En primer lugar, haciendo uso de un asa de 10 uL, se colocó una gota de orina sobre una lámina portaobjetos y se dejó secar a temperatura ambiente. Enseguida, se realizó la coloración Gram con cristal violeta por 1 minuto, con lugol por otro minuto, con alcohol acetona por 10 segundos y con safranina por 1 minuto; al término de la coloración, las láminas fueron secadas a temperatura ambiente. Finalmente, las láminas fueron observadas al microscopio con objetivo de 100X (de inmersión). Se observó un promedio de 20 campos y se consideró como bacteriuria significativa la presencia de dos o más bacterias gramnegativas o grampositivos ^(18,33, 34), según se muestra en el Anexo 3.

PROCEDIMIENTO DE CULTIVO DE ORINA

El procesamiento de las muestras se realizó siguiendo el protocolo detallado en el Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias y el Manual de Procesamiento de Urocultivo de la Sociedad Científica Peruana de Microbiología ^(31, 32). Teniendo la muestra de orina, los medios de cultivo y el asa de siembra se procedió a la siembra de la orina: primero, se esterilizó el asa de siembra acercando el filamento a la llama del mechero de Bunsen a gas; luego se dejó enfriar antes de cargar la muestra para evitar que el calor destruya a los

microorganismos presentes. Con la ayuda y cerca de un mechero a gas, se abrió la tapa del frasco de la muestra de orina. A continuación, se sumergió el asa calibrada de 1 uL en la muestra, y se inoculó en la placa de agar sangre modificado realizando un estriado continuo; seguidamente, sin quemar el asa, se ejecutó el mismo procedimiento en agar cromogénico (CHROMagar™ Orientation) y en agar Mac Conkey. Finalmente, se llevó a incubar durante 24 horas a 37 °C, según el flujograma de trabajo que se especifica en el Anexo 4.

- **SEGUNDO DÍA**

LECTURA DE PLACAS DE UROCULTIVO

A las 24 horas de cultivo, se examinaron las placas de agar sangre modificado, agar cromogénico y agar Mac Conkey utilizados en este estudio y se procedió a observar el crecimiento y las diferentes características presentes, como hemólisis, fenómeno de swarming, fermentación de lactosa, colonias mucoides, según se muestra en el Anexo 5. Adicionalmente, en las placas de agar sangre modificado y agar cromogénico, se realizó el conteo de colonias, el mismo que se multiplicó por el factor de dilución (1000) para obtener el número total de unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL)⁽³⁵⁾.

➤ Identificación por método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot

Del aislamiento primario del agar sangre modificado, se procedió a realizar las pruebas rápidas para lo cual se tomaron las colonias sospechosas y se colocaron sobre un soporte de papel filtro; el contacto de las colonias bacterianas con los reactivos produjo la formación de color. La identificación se realizó de acuerdo con las características diferenciales para la identificación de uropatógenos, las cuales se detallan en el Anexo 6.

➤ Identificación en medio cromogénico

Los microorganismos se identificaron por la producción de color de las colonias aisladas.

Coloración de colonias e identificación presuntiva de bacterias gramnegativas y grampositivas en CHOMoagar™ Orientation

Bacteria	Descripción de color
<i>Escherichia coli</i>	Rosa oscuro a rojizo
<i>Proteus mirabilis</i>	Beige, rodeadas de halos de color marrones
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Azul metálico
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Rosa claro a rosado
<i>Enterococcus faecalis</i>	Azul turquesa

Fuente: Merlino et al. 1996⁽³⁶⁾

ANÁLISIS DE DATOS

• PRESENTACIÓN DE LOS DATOS

Los datos recolectados en las fichas microbiológicas fueron almacenados en hojas de Microsoff Excel 2016, a través de tablas de frecuencia. Se evaluaron las identificaciones por el método agar sangre modificado más pruebas rápidas spot y el método de medio cromogénico. También se diseñaron tablas comparativas de la categoría de frecuencia en la identificación de uropatógenos para los métodos de agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y de medio cromogénico. Se consideró la identificación en sistema automatizado Vitek® 2 Compact como método de referencia al contener en sus tarjetas de identificación un mayor número de sustratos. El control de calidad de estas tarjetas fueron hechas mediante las cepas ATCC (*Escherichia coli*: ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae*: ATCC 700603, *Enterococcus faecalis*: ATCC 29212).

• ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar el grado de concordancia entre el método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el método de medio cromogénico, se utilizó la prueba de índice Kappa siguiendo la fórmula estadística:

$$K = \frac{[(\Sigma \text{concordancias observadas}) - (\Sigma \text{concordancias atribuibles al azar})]}{[(\text{Total de observaciones}) - (\Sigma \text{concordancias atribuibles al azar})]}$$

El valor coeficiente Kappa se valoró con la escala de concordancia descrita por Landis y Koch ⁽³⁷⁾.

Valoración del coeficiente Kappa

Coeficiente Kappa	Fuerza de concordancia
0,00	Pobre (Poor)
0,01 – 0,20	Leve (Slight)
0,21 – 0,40	Aceptable (Fair)
0,41 – 0,60	Moderada (Moderate)
0,61 – 0,80	Considerable (Substantial)
0,81 – 1,00	Casi perfecta (Almost perfect)

Fuente: Cerda J. 2008⁽³⁶⁾

2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Las muestras de orina que se incluyeron en este estudio fueron muestras procesadas según el protocolo de trabajo establecido por el laboratorio de microbiología del Hospital Docente Madre Niño San Bartolomé, desde la recepción de las muestras hasta el reporte de los resultados; previo a su descarte, las muestras fueron incluidas en el estudio y, posteriormente, fueron desechadas de acuerdo con el flujograma de trabajo del laboratorio. Las muestras fueron procesadas de forma independiente al proceso del laboratorio del Hospital Docente Madre Niño San Bartolomé; se respetó la confidencialidad, se asignó un código a cada muestra y no se tuvo acceso a las historias clínicas de los pacientes puesto que se trabajó solo con las bacterias aisladas, motivo por el cual no se requirió la elaboración de un consentimiento informado.

En el presente trabajo de investigación se tuvo en consideración la declaración de Helsinki para la investigación médica, y los principios éticos básicos de respeto por las personas, beneficencia y justicia. Además, se contó con aprobación y autorización de la encargada del laboratorio de Microbiología y del Comité Institucional de Ética en Investigación mediante Expediente N° 08707-20, ver Anexo 7.

CAPÍTULO III

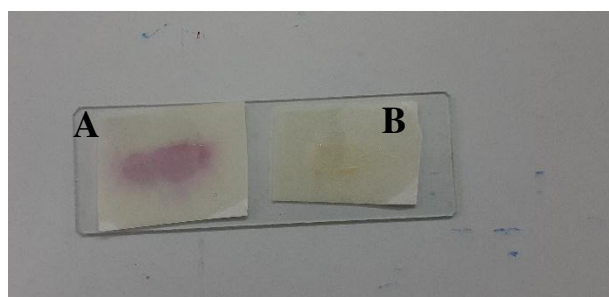
RESULTADOS

En el laboratorio de microbiología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé se procesaron un total de 1800 muestras de orina en un periodo de tres meses, de las cuales 228 fueron positivas a las pruebas de tamizaje; es decir, fueron positivas a la prueba de los nitritos o a la coloración Gram. Tras la siembra de las 228 muestras, se observa crecimiento bacteriano en todas. Sin embargo, de este total solo 174 cumplieron con los criterios de inclusión: aislamientos puros y con recuento mayor a 100 000 UFC/mL, siendo excluidas 54 muestras que presentaron cultivo con microbiota múltiple, recuento bajo de unidades formadoras de colonias y aquellas cuya identificación por el método de referencia (sistema automatizado Vitek® 2 Compact) fueron diferentes a los 5 uropatógenos de interés para este estudio.

3.1 IDENTIFICACIÓN DE UROPATÓGENOS AISLADOS EN AGAR SANGRE MODIFICADO MEDIANTE PRUEBAS RÁPIDAS SPOT

Los uropatógenos aislados en agar sangre modificado fueron sometidos a las pruebas rápidas spot e identificados de acuerdo con las características diferenciales para la identificación de uropatógenos, que se muestra en el Anexo 6.

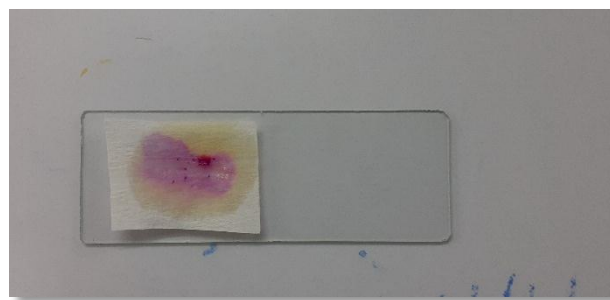
La prueba rápida spot indol con reacción positiva produjo sobre el papel filtro una mancha de color rojo; al contrario, la reacción negativa no produjo cambio de color. Las colonias con bacilos gramnegativos-lactosa positiva que fueron sometidas a la prueba rápida spot indol y que dieron reacción positiva siendo identificadas como *Escherichia coli*. En la Fotografía 1, se muestran las reacciones de la prueba rápida spot indol.



Fotografía 1. Prueba rápida spot indol:

A. Reacción Positiva; B. Reacción Negativa

La prueba rápida spot ureasa con reacción positiva produjo sobre el papel filtro una mancha de color rojo; en cambio, la reacción negativa no provocó cambio de color. La prueba rápida spot esculina con reacción positiva produjo una mancha con pérdida de fluorescencia; por el contrario, en la reacción negativa se conservó la fluorescencia. Las colonias bacilos gramnegativos-lactosa positiva fueron sometidas a las pruebas rápidas spot y cuando las reacciones bioquímicas fueron: spot indol negativo, spot ureasa positivo y spot esculina positivo fueron identificadas como *Klebsiella pneumoniae*. En la Fotografía 2, se muestra la reacción de la prueba rápida spot ureasa. Las colonias con cocos grampositivos–catalasa negativo fueron sometidas a las pruebas rápidas spot esculina dieron como resultado positivo la hidrólisis de la esculina: spot esculina positivo siendo identificados como *Enterococcus faecalis*. En la Fotografía 3, se muestra la reacción de la prueba rápida spot esculina.



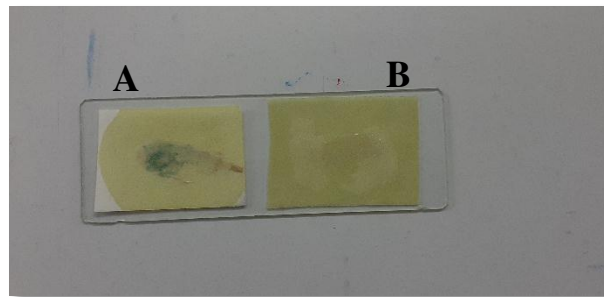
Fotografía 2. Prueba rápida spot ureasa: Reacción Positiva



Fotografía 3. Prueba rápida spot esculina: Reacción Positiva

La prueba rápida spot fenilalanina desaminasa con reacción positiva produjo sobre el papel filtro una mancha de color verde; en cambio, la reacción negativa no provocó cambio de color.

Las colonias con bacilos gramnegativos-lactosa negativas–oxidasa negativa; que fueron sometidas a las pruebas rápidas spot dieron como resultado positivo la desaminación de la fenilalanina: spot indol negativo, spot ureasa positivo y spot fenilalanina desaminasa positivo fueron identificados como *Proteus mirabilis*. En la Fotografía 4, se muestran las reacciones de la prueba rápida spot fenilalanina desaminasa.

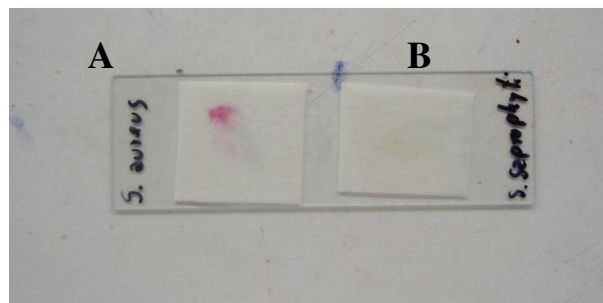


Fotografía 4. Prueba rápida spot fenilalanina desaminasa:

A. Reacción Positiva; B. Reacción Negativa

La prueba rápida spot fosfatasa con reacción positiva produjo sobre el papel filtro una mancha de color rosa; en cambio, la reacción negativa no provocó cambio de color.

Las colonias con cocos grampositivos–catalasa positivo que fueron sometidas a las pruebas rápidas spot dieron como resultado: spot fosfatasa negativo y spot ureasa positivo fueron identificados como *Staphylococcus saprophyticus*; mientras, que especies de *Staphylococcus aureus* dieron como resultado spot fosfatasa positivo. En la Fotografía 5, se muestran las reacciones de la prueba rápida spot fosfatasa.



Fotografía 5. Prueba rápida spot fosfatasa:

A. Reacción Positiva; B. Reacción Negativa

3.2 COMPARACIÓN DE LAS FRECUENCIAS DE UROPATÓGENOS IDENTIFICADOS

De los 174 microorganismos identificados por el método de referencia, 145 (83,33%) fueron *Escherichia coli*, 14 (8,05%) fueron *Klebsiella pneumoniae*, 7 (4,02%) fueron *Proteus mirabilis*, 5 (2,87%) fueron *Enterococcus faecalis* y 3 (1,73%) fueron *Staphylococcus saprophyticus*. Con respecto a la identificación con los métodos de agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y un medio cromogénico se identificaron el mismo número de aislamientos: 141 (81,03%) fueron *Escherichia coli*, 14 (8,05%) fueron *Klebsiella pneumoniae*, 7 (4,02%) fueron *Proteus mirabilis*, 5 (2,87%) fueron *Enterococcus faecalis*, 2 (1,15%) fueron *Staphylococcus saprophyticus*, pero 5 (2,87%) no fueron identificados. Tanto el agar sangre modificado - pruebas rápidas spot como el medio cromogénico identificaron el 97,12% del total cada uno con el método de referencia y sistema automatizado de identificación bacteriana Vitek® 2 Compact.

Con respecto a la identificación de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, y *Enterococcus faecalis* en el agar sangre modificado-pruebas rápidas tipo spot y en medio cromogénico fueron concordantes en un 100% con el método de referencia. Diferentes resultados se obtuvieron en los aislamientos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus saprophyticus* que solo fueron concordantes en un 97,24% y un 66,66%, respectivamente.

En la Tabla 1, se muestra la frecuencia de uropatógenos identificados en agar sangre modificado más pruebas rápidas spot y un medio cromogénico comercial, en relación con el método de identificación de referencia.

Tabla 1. Frecuencia de identificación de uropatógenos en agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y en medio cromogénico (n=174)

Uropatógeno	Agar sangre					
	Método de referencia		modificado – pruebas		Medio cromogénico	
	N	(%)	rápidas spot	N	(%)	
<i>Escherichia coli</i>	145	83,33	141	81,03	141	81,03
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	8,05	14	8,05	14	8,05
<i>Proteus mirabilis</i>	7	4,02	7	4,02	7	4,02
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	2,87	5	2,87	5	2,87
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	1,73	2	1,15	2	1,15
No identifica	0	0	5	2,88	5	2,88
Total	174	100	174	100	174	100

El sistema automatizado Vitek® 2 Compact identificó 145 cepas de *Escherichia coli*, de las cuales 4 cepas no pudieron ser identificados por los métodos de estudio, al no cumplir con las características requeridas. El método de agar sangre modificado-pruebas rápidas spot requiere, para identificación *Escherichia coli*, que las colonias sean lactosas positivas; sin embargo, estas colonias fueron lactosas negativas. Por otra parte, en el medio cromogénico crecieron colonias blancas, siendo el color rojo característica de *Escherichia coli*.

En el gráfico 1, se muestra el perfil de identificación de los uropatógenos aislados utilizando los métodos de agar sangre modificado más pruebas rápidas spot y el medio cromogénico; además, se muestra la identificación realizada por el sistema automatizado Vitek® 2 Compact.

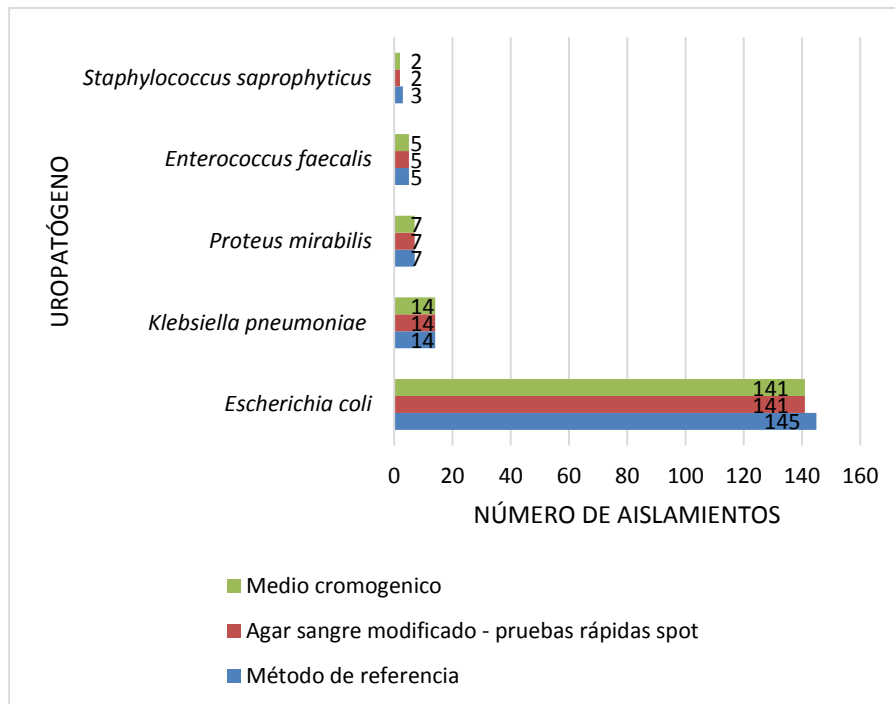


Gráfico 1. Perfil de frecuencia de identificación de uropatógenos aislados (n=174)

3.3 CONCORDANCIA ENTRE MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN

En la tabla 2, se muestra la concordancia de identificación entre el método agar sangre modificado más pruebas rápidas spot y el método de identificación de referencia, el sistema automático Vitek® 2 Compact.

Tabla 2: Concordancia de identificación entre el método agar sangre modificado-
pruebas rápidas spot y el método de identificación de referencia (n=174)

Método agar sangre modificado - pruebas rápidas spot	Identificación de uropatógenos por método de referencia							Total
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>			
No identificable	4				1		5	
<i>Escherichia coli</i>	141						141	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		14					14	
<i>Proteus mirabilis</i>			7				7	
<i>Enterococcus faecalis</i>				5			5	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>					2		2	
Total	145	14	7	5	3		174	

En la tabla 3, se muestra la concordancia en la identificación entre el método del medio cromogénico y el estándar, con el sistema automatizado Vitek® 2 Compact.

Tabla 3: Concordancia de identificación entre el método de medio cromogénico y el método de identificación de referencia (n=174)

Método de medio cromogénico	Identificación de uropatógenos						
	Por método de referencia						
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Total	
No identificable	4				1	5	
<i>Escherichia coli</i>	141					141	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		14				14	
<i>Proteus mirabilis</i>			7			7	
<i>Enterococcus faecalis</i>				5		5	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>					2	2	
Total	145	14	7	5	3	174	

En la tabla 4, se muestra la concordancia de identificación presuntiva entre los métodos agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el medio cromogénico.

Tabla 4: Concordancia de identificación presuntiva entre método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y método de medio cromogénico (n=174)

Método agar sangre modificado- pruebas rápidas spot	Método medio cromogénico							Total
	No identificable	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		
No identificable		4				1	5	
<i>Escherichia coli</i>	4	141					145	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			14				14	
<i>Proteus mirabilis</i>				7			7	
<i>Enterococcus faecalis</i>					5		5	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1					2	3	
Total	5	145	14	7	5	3	174	

Para determinar el nivel de concordancia entre los métodos de identificación, se calculó el índice de correlación Kappa. Comparando los métodos de identificación agar sangre modificado - pruebas rápidas spot y el medio cromogénico, para la variable uropatógenos aislados, se halló un índice de correlación de 1,00 que se categoriza según la escala de Landis y Koch, como una concordancia “casi perfecta”. En relación con los métodos de identificación agar sangre modificado - pruebas rápidas spot y el de identificación de referencia, para la variable uropatógenos aislados, se halló un índice de correlación de 0,909 (IC 95%) que se categoriza, según la escala de Landis y Koch, como una concordancia “casi perfecta”. También se obtuvo el valor de índice de correlación de 0,909 en la relación entre el método medio cromogénico y el sistema automatizado Vitek® 2 Compact.

Comparando los resultados del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot con la identificación del sistema automatizado Vitek® 2 Compact como método de identificación de referencia para la identificación de *Escherichia coli*, se observó una sensibilidad de 97,2% y una especificidad de 100% (Tabla 5).

Tabla 5: Comparación de la cantidad de resultados del método agar sangre modificado - pruebas rápidas spot con la cantidad de resultados emitidos por la identificación del método de referencia para *Escherichia coli*.

Resultado de método agar sangre modificado - pruebas rápidas spot	Identificación por método de referencia		Total
	<i>Escherichia coli</i>	Otro uropatógeno	
Positivo	141	0	141
Negativo	4	29	33
TOTAL	145	29	174

En relación con la identificación de *Klebsiella pneumoniae*, comparando los resultados del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot con la identificación del sistema automatizado Vitek® 2 Compact como método de identificación de referencia, se observó una sensibilidad de 100% y una especificidad de 100% (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación de la cantidad de resultados del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot con la cantidad de resultados emitidos por la identificación del método de referencia para *Klebsiella pneumoniae*.

Resultado de método agar sangre modificado- pruebas rápidas spot	Identificación por método de referencia		Total
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Otro uropatógeno	
Positivo	14	0	14
Negativo	0	160	160
TOTAL	14	160	174

CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

El uso de las pruebas rápidas tipo spot se ha limitado y casi han sido olvidadas debido a la aparición de medios cromogénicos comerciales o sistemas de identificación automatizados en la microbiología clínica. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta serie de muestras de orina demuestran su potencial uso como método alternativo de identificación de uropatógenos en el trabajo de rutina de los laboratorios de microbiología.

Se demostró la utilidad del agar sangre modificado-pruebas rápidas tipo spot en la identificación de uropatógenos de mayor frecuencia aislados de urocultivos procesados en los laboratorios de microbiología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Barlotomé. De un total de 174 (100%) uropatógenos identificados por el método de referencia (sistema automatizado Vitek® 2 Compact), el método agar sangre modificado más pruebas rápidas tipo spot identificó 169 (97,12%) uropatógenos: 141 (81,03%) *Escherichia coli*, 14 (8,05%) *Klebsiella pneumoniae*, 7 (4,02%) *Proteus mirabilis*, 5 (2,87%) *Enterococcus faecalis* y 2 (1,15%) *Staphylococcus saprophyticus* entre los aislados.

Para identificar el uropatógeno *Escherichia coli* se utilizaron dos características bioquímicas: lactosa positiva en agar Mac Conkey e indol positivo en la prueba rápida spot indol a partir de bacterias aisladas en agar sangre modificado. Esto concuerda con las principales características bioquímicas para la identificación de *Escherichia coli*, como la producción de indol a partir del triptófano y la fermentación de la lactosa⁽¹⁸⁾; asimismo, en el estudio realizado por Peterson et al.⁽³⁸⁾ de 112 bacterias identificadas como *Escherichia coli*, 111 (99,1%) dieron positivo a la prueba spot indol por lo que recomiendan su uso.

Se identificó *Proteus mirabilis* mediante las características bioquímicas lactosa negativa y oxidasa negativa, el uso de las pruebas rápidas: spot indol negativo, spot ureasa positivo y spot fenilalanina desaminasa positivo, a partir de bacterias aisladas en agar sangre modificado. Esto concuerda con las características bioquímicas básicas para la identificación de *Proteus mirabilis* como la no fermentación de lactosa, la ausencia de citocromo C, la no producción de indol, la presencia de la enzima fenilalanina desaminasa e hidrólisis de la urea^(18, 35) además, se correlaciona con el

estudio realizado por Castro et al.⁽¹⁶⁾ que compararon diferentes métodos para identificar especies del género *Proteus* como *Proteus mirabilis*; destacan las pruebas bioquímicas: hidrólisis de la urea, fenilalanina desaminasa, ornitina descarboxilasa y no producción de indol. Por otra parte, similar al presente estudio, Qadri et al.⁽¹⁰⁾ usaron pruebas spot para detectar la actividad de la ureasa en bacterias gramnegativa, y descubrieron que *Proteus mirabilis* posee capacidad para hidrolizar a la urea.

En la investigación se usaron las pruebas rápidas spot indol, spot ureasa y spot esculina, a partir de bacterias aisladas en agar sangre modificado para identificar *Klebsiella pneumoniae* mediante las características bioquímicas como indol negativo, ureasa positivo y esculina positivo. Este proceso concuerda con las principales características bioquímicas para la identificación de *Klebsiella pneumoniae*, como fermentación de lactosa, hidrólisis de urea, hidrólisis de esculina y no producción de indol^(18, 35). Asimismo, tiene semejanza con el estudio realizado por Salas et al.⁽¹²⁾ que utilizaron la prueba de la esculina para la identificación de enterobacterias, como la *Klebsiella pneumoniae*; de manera similar, en el estudio de Qadri et al.⁽¹⁰⁾ se usaron pruebas spot para detectar la actividad de la ureasa en bacterias gramnegativa, y detectaron que *Klebsiella pneumoniae* hidroliza a la urea.

Se identificó *Staphylococcus saprophyticus* mediante las características bioquímicas catalasa positiva, y las pruebas rápidas spot ureasa positivo y spot fosfatasa negativo; todas estas a partir de bacterias aisladas en agar sangre modificado. Esto concuerda con las características bioquímicas del esquema para identificar *Staphylococcus saprophyticus* como hidrólisis de la urea y actividad de la fosfatasa^(18, 35); además, en el estudio de Loes et al.⁽³⁹⁾ refieren que la enzima ureasa es un factor de virulencia de *Staphylococcus saprophyticus*. Asimismo, Pickett et al.⁽¹¹⁾ y Soto et al.⁽¹⁵⁾ identificaron a *Staphylococcus saprophyticus* mediante la adición de difosfato de fenoltaleína en agar sangre.

Enterococcus faecalis fue identificado mediante las características bioquímicas catalasa negativa y pruebas rápidas spot esculina positivo, estas a partir bacterias aisladas en agar sangre modificado. Esto concuerda con las características bioquímicas para identificar *Enterococcus faecalis* como la hidrólisis de la esculina^(18, 25);

asimismo, Díaz et al.⁽⁴⁰⁾ usaron el agar bilis esculina para confirmar los aislamientos de *Enterococcus faecalis*.

Por el método agar sangre modificado-pruebas rápidas tipo spot se encontró que la frecuencia de uropatógenos aislados fue el siguiente: *Escherichia coli* (81,03%), *Klebsiella pneumoniae* (8,05%), *Proteus mirabilis* (4,02%), *Enterococcus faecalis* (2,87%) y *Staphylococcus saprophyticus* (1,15%). Los resultados obtenidos en este estudio indican, al igual que en la mayoría de investigaciones, que las infecciones urinarias en más del 90% son causadas por un único microorganismo, siendo *Escherichia coli* la causante del 75% a 85% de casos; mientras que *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus saprophyticus* son responsables de los casos restantes⁽²⁾.

Según el mapa microbiológico del Hospital Nacional Docente San Bartolomé del 2010, los microorganismos aislados de mayor frecuencia fueron: *Escherichia coli* (72%), *Klebsiella pneumoniae* (7%), *Proteus mirabilis* (4%), *Staphylococcus saprophyticus* (4%), *Enterococcus faecalis* (3%) y *Candida albicans* (2%). Echevarria et al.⁽⁵⁾ reportaron frecuencias de 75% a 80% para *Escherichia coli* y de 20% a 25% para el resto de microorganismos como: *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* spp., *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* en infecciones del tracto urinario.

En el 2014, Orego et al.⁽⁴¹⁾ reportaron los microorganismos *Escherichia coli* (69%), *Enterococcus* spp. (11%) y *Klebsiella* spp. (8%) como uropatógenos de mayor frecuencia. Por otro lado, Capozzi et al.⁽⁴²⁾ encontraron que los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron *Escherichia coli* (84%) y *Klebsiella pneumoniae* (15,40%).

En el presente estudio se logró la identificación en un 97,12% (141/145) para cepas de *Escherichia coli* aisladas en los urocultivos, valor que fue similar tanto en el método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot como en el método de medio cromogénico respecto al método de referencia. Similares resultados se reportaron en el estudio de Manikan et al.⁽²⁶⁾ que emplearon CHROMagar Orientation en dos periodos distintos y alcanzaron un 100% en la identificación de *Escherichia coli*.

De manera general, gran parte de los aislamientos de *Escherichia coli* fermentan lactosa reportándose porcentajes de hasta 95% de positividad⁽²⁸⁾. Sin embargo, en el presente estudio se aisló 4 cepas de *Escherichia coli* no fermentadoras de lactosa que correspondería al 2,76% de negatividad. Por otro lado, en el estudio de Edberg et al.⁽⁴³⁾, en cuanto a la positividad de la lactosa para la *Escherichia coli*, reportaron un 88% de positividad, valor que es menor al encontrado en este estudio.

Los datos anteriores se corroboran con lo reportado por Gariboglio et al.⁽⁴⁴⁾ en cuyo estudio indicaron que *Escherichia coli* presentaron colonias blancas en medio cromogénico por carencia de la enzima β -glucoronidasa, que permite la expresión de color.

El uso del método agar sangre modificado-pruebas rápidas en el presente estudio permitió la identificación de *Klebsiella pneumoniae*; se obtuvo para cada una de las pruebas rápidas tipo spot un 100% (14/14) de positividad. Valores similares se reportaron en el estudio de Salas et al.⁽¹²⁾ quienes confirmaron un 98% de positividad para la hidrólisis de la esculina. También, Edberg et al.⁽⁴³⁾, informaron un 99% de positividad en la hidrólisis de la esculina por enterobacterias. Por otro lado, Qadri et al.⁽¹⁰⁾ utilizaron la prueba spot para la detección de la actividad de la ureasa en bacterias gramnegativas, y reportaron que, para *Klebsiella pneumoniae*, la prueba spot ureasa resultó positivo en un 68% (47/69).

La identificación de *Proteus mirabilis* por el método agar sangre modificado-pruebas rápidas presentó, para cada una de las pruebas rápidas tipo spot, un 100% (7/7) de positividad. Valores similares se reportaron en el estudio de Qadri et al.⁽¹⁰⁾ quienes utilizaron la prueba spot para la detección de la actividad de la ureasa en bacterias gramnegativas, y reportaron para *Proteus mirabilis* 100% (261/261) de positividad. Asimismo, Castro et al.⁽¹⁶⁾, para la identificación de *Proteus mirabilis* usaron la prueba bioquímica de fenilalanina desaminasa y obtuvieron una positividad de 100% (87/87). Por otra parte, Gimmanco et al.⁽¹³⁾ utilizaron la prueba de fenilalanina desaminasa para identificar *Proteus mirabilis* y obtuvieron una positividad de 100% (12/12).

Para la identificación de *Enterococcus faecalis* en el agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el medio cromogénico, se obtuvieron resultados similares en un 100%

(5/5). Este resultado es mayor al informado por Manickam et al.⁽²⁶⁾ quienes, mediante el uso de medio cromogénico, lograron identificar *Enterococcus faecalis* en un 61% (11/18).

Para determinar el nivel de concordancia en la identificación, se realizó el cálculo del índice Kappa y se categorizó de acuerdo con la escala de Landis y Koch. Se observó que entre el método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el método de identificación de referencia se obtuvo una concordancia categorizada como “casi perfecta”. En relación con los métodos agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y método cromogénico también se obtuvo una concordancia categorizada como “casi perfecta” que tras el análisis nos permite asegurar que el método agar sangre modificado-pruebas rápidas tipo spot es válido y confiable.

La identificación de uropatógenos en agar sangre modificado-pruebas rápidas tipo spot presentó sensibilidad de 97,2% para *Escherichia coli* y 100% para *Klebsiella pneumoniae*. Resultados similares se reportaron en los estudios de Akter et al.⁽⁴⁵⁾ y Sohely et al.⁽⁴⁶⁾ donde, presentaron sensibilidades de 97,49% y 92%, respectivamente, para la identificación de uropatógenos en medios cromogénicos.

En el estudio de Manickam et al.⁽²⁶⁾, mediante el uso de CHROMagar Orientation, la identificación de bacteriana fue directa y no requirió de subcultivos, lo que reduce la carga laboral. De manera similar, aunque el uso del agar sangre modificado requiere de pruebas rápidas tipo spot, disminuye significativamente la carga laboral.

La utilidad de este método es el importante ahorro de tiempo, mientras que los métodos convencionales requieren entre 48 a 72 horas para la identificación bacteriana ^(18, 33), el uso del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot se reduce el tiempo de identificación a 24 horas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Como resultado de la comparación entre los métodos agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y un medio cromogénico para la identificación de uropatógenos aislados en los urocultivos, se obtiene que ambos métodos son útiles para una rápida identificación de uropatógenos, que permite optimizar el tiempo y disminuir la carga laboral.
- El método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot permite la identificación presuntiva de uropatógenos para lo cual las colonias aisladas deben de cumplir con el flujograma de trabajo y con el cuadro de características diferenciales que permiten la identificación rápida y directa de uropatógenos aislados en urocultivos. Este método permite disminuir el tiempo de identificación de uropatógenos a un máximo de una hora.
- De la comparación de las frecuencias de identificación de uropatógenos entre los métodos agar sangre modificado-pruebas rápidas spot y el medio cromogénico, se concluye que estas son similares.
- La comparación de identificación de uropatógenos del método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot presentó un índice Kappa de 1,00, categorizado como una concordancia “casi perfecta” en relación con el método de medio cromogénico.
- La comparación del método de identificación de uropatógenos en agar sangre modificado-pruebas rápidas spot frente al método de referencia presentó un índice de correlación de 0,91 considerada como una concordancia “casi perfecta”.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar un mayor número de aislamientos de uropatógenos para validar el método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot.
- Según el perfil de los principales uropatógenos en cada hospital o región se debe adicionar sustratos que ayuden a incrementar la capacidad de identificación de otros patógenos mediante el uso de pruebas rápidas spot.
- Adicionar algún antibiótico al agar sangre modificado para hacerlo selectivo en la detección de uropatógenos multirresistentes.
- El método agar sangre modificado-pruebas rápidas spot permite la identificación de uropatógenos, por lo cual será factible y de utilidad su aplicación de rutina en los laboratorios de microbiología.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nester E., Anderson D., Roberts C. y Nester M. Microbiología Humana. 5ªed. México: Editorial Manual Moderno; 2007.
2. Alós J. Epidemiología y etiología de la infección urinaria comunitaria. Sensibilidad antimicrobiana de los principales patógenos y significado clínico de la resistencia. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica, 2005; 23 (4):3-8.
3. Luján D. y Pajuelo G. Método rápido para detección de bacteriuria en examen microscópico de orina no centrifugada. Revista Biomédica, 2005; 16: 169-173.
4. Andreu A., Cacho J., Coira A. y Lepe J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica, 2011; 29 (1):52-57.
5. Echevarría J., Zárate M., Sarmiento E. y Osorio F. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Acta Médica Peruana, 2006; 23 (1):26-31.
6. Sociedad Chilena de Infectología, Comité de Microbiología Clínica. Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. Revista Chilena Infectología, 2001; 18(1): 57-63.
7. Ordoñez M. Guías prácticas para los laboratorios de bacteriología clínica. 1ªed. Colombia: Editorial Panamericana; 2014.
8. Brooks G., Butel J. y Morse S. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 18ªed. México: Manual Moderno; 2005.
9. Miller J. y Wright J. Spot Indole Test: Evaluation of Four Reagents. Journal of Clinical Microbiology, 1982; 15(4): 589-592.
10. Qadri H., Zubairi S., Hawley H. y Ramirez E. Simple Spot Test for Rapid Detection of Urease Activity. Journal of Clinical Microbiology, 1984; 20(6): 1198-1199.
11. Pickett D. y Welch D. Recognition of *Staphylococcus saprophyticus* in Urine Cultures by Screening Colonies for Production of Phosphatase. Journal of Clinical Microbiology, 1984; 21(3): 310-313.
12. Salas J., Guevara J. y Herrera M. Utilización de la esculina en la identificación de bacterias. Revista Médica Hospital Nacional de Niños, 1989; 1 y 2 (24): 97-100.

13. Gimmanco G. y Pignato S. Rapid identification of micro-organisms from urinary tract infections by β -glucuronidase, phenylalanine deaminase, cytochrome oxidase and indole test on isolation media. *Journal of Medical Microbiology*, 1994; 41: 389-392.
14. York M., Baron E., Clarridge J., Thomson R. y Weinstein M. Multilaboratory Validation of Rapid Spot Test For Identification of *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000; 38(9): 3394-3398.
15. Soto J., Riveros J., Gonzales E., Zavaleta f., Aguilar E. Leiva M., *et al.* Identificación de *Staphylococcus saprophyticus* en urocultivos empleando un nuevo método: agar sangre fosfatasa. *Anales de la Facultad de Medicina*, 2005; 1:66.
16. Castro S., Rodríguez C., Perazzi B., Radice M., Paz M., Muzio H., *et al.* Comparación de diferentes métodos para identificar las especies del género *Proteus*. *Revista Argentina de Microbiología*, 2006; 38:119-124.
17. González F., Palacios R., Alcover J., Campos J., Borrego F. y Dámaso D. La infección urinaria y su prevención. *Actas Urológicas Españolas*, 2012; 36(1): 20-26.
18. Koneman E., Allen S., Janda W., Schreckenberger P. y Winn W. Diagnóstico Microbiológico. 5ed. Argentina. Editorial Médica Panamericana; 2003.
19. Cavagnaro F. Infección urinaria en la infancia. *Revista Chilena Infectología*, 2005; 22(2): 161-168.
20. Obregón C., Henao C. y Cardona J. Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. *Acta Médica Colombiana*, 2014; 39 (4): 352-358.
21. Valdevenito J. Infección urinaria recurrente en la mujer. *Revista Chilena de Infectología*. 2008; 25(4): 268-276.
22. Reyes A., Gómez A. y Rodríguez J. Validez del parcial de orina y el Gram en el diagnóstico de infección del tracto urinario en el embarazo. Hospital Simón Bolívar, Bogotá, 2009 – 2010. *Revista Colombiana de Obstetricia Ginecología*, 2013; 64:53-59.
23. De Cueto M. Diagnóstico microbiológico de la infección del tracto urinario. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 2005; 23 (4):9-14.

24. García C. Infecciones urinarias. Revista Pediátrica Atención Primaria, 2013; 22:71-80.
25. Mac Faddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ªed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2000.
26. Manickam K., Karlowsky J., Adam, H., Lagacé P., Rendina, A., Pang P. *et al.* CHROMagar Orientation Medium Reduces Urine Culture Workload. Journal of Clinical Microbiology, 2013; 51(4): 1179–1183.
27. Jordá L., Vila A., Lanza A., Bonvehi P., Nazar J., Mikietuk A. *et al.* Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 2005; 39(1): 19-25.
28. Rodríguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública México, 2002; 44(5): 464-475.
29. Ortega L. Enterococos: actualización. Revista Habanera de Ciencias Médicas, 2010; 9(4): 507-515.
30. Vanegas M., Guías para el laboratorio de bacteriología. 1ªed. Colombia: Editorial Universidad de los Andes; 2015.
31. Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias. 1ed.Perú; Editorial MINSA.2001.
32. Sociedad Científica Peruana de Microbiología. Manual de Procedimientos de Microbiología: Urocultivo. 1ed.Perú.2012.
33. Sociedad Chilena de Infectología. Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. Revista Chilena de Infectología, 2001; 18(1): 57-63.
34. Wein A., Urología de Campbell. 9ªed. Argentina: Editorial Manual Moderno; 2008.
35. Diagnóstico Microbiológico Baile y Scott. 12ªed. Argentina: Editorial Manual Moderno; 2009.
36. Merlino J, Siarakas S, Graham R, Funnell G. Evaluation of CHROMagar Orientation for Differentiation and Presumptive Identification of Gram-Negative Bacili and *Enterococcus* Species. Journal of Clinical Microbiology, 1996; 34(7): 1788-1793.

37. Cerda J. y Villarroel L. Evaluación de la concordancia interobservador en investigación pediátrica: coeficiente Kappa. *Revista Chilena de Pediatría*, 2008; 70(1): 54-58.
38. Peterson C., Hale D. y Matsen J. An Evaluation of the Practicality of the Spot-Indole Test for the Identification of *Escherichia coli* in The Clinical Microbiology Laboratory. *American Journal of Clinical Pathology*. 1982; 78(5): 755-758.
39. Loes A. et al. Inhibition of urease activity in the urinary tract pathogen *Staphylococcus saprophyticus*. *The Society for Applied Microbiology*, 2013; 58: 31-41.
40. Díaz M. *Enterococcus*, Medios de cultivo convencionales y cromogénicos. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2013; 51 (1): 97-110
41. Orrego M., Henao C. y Cardona J. Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. *Acta Médica Colombiana*. 2014; 39(4): 352-358.
42. Capozzi E., Rocaro D., Kornett A. y Perdomo M. Agentes etiológicos de infecciones urinarias en adultos mayores de un centro de salud del estado Carabobo. *Revista Kasmera*. 2016; 44(1): 35-43.
43. Edberg S. y Trepata R. Rapid and economical identification and antimicrobial susceptibility test methodology for urinary tract pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*, 1983; 20(6): 1287-1291.
44. Gariboglio M., Usandizaga G., Matzkin R., Irigoyen B., y Merino L. Comparación entre un medio cromogénico y un medio de cultivo convencional para la realización de urocultivos en pacientes ambulatorios. *Instituto de Medicina Regional*, 2008; 1: 30-34.
45. Akter L., Haque R. y Salam A. Comparative evaluation of chromogenic agar medium and conventional culture system for isolation and presumptive identification of uropathogens. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 2014; 30(5): 1033-1037.
46. Sharmin S., Alamgir F., Begum F. y Jaigirdar Q. Use of Chromogenic Agar Media for Identification of Uropathogen. *Bangladesh Journal Medical Microbiology*, 2010; 4(1): 18-23.

ANEXOS

Anexo 1

FICHA MICROBIOLÓGICA

EXPERIMENTO N°: _____ CÓDIGO DE LABORATORIO: _____ FECHA: ____/____/____

PRUEBAS DE SCREENING

PRUEBA DE NITRITOS : POSITIVO () NEGATIVO ()
 COLORACIÓN GRAM : _____

CRECIMIENTO EN AGAR MAC CONKEY

FERMENTACIÓN DE LACTOSA : POSITIVO () NEGATIVO ()
 CARACTERÍSTICAS DE COLONIAS : _____
 PRUEBA OXIDASA : POSITIVO () NEGATIVO ()

I. AGAR SANGRE MODIFICADO - PRUEBAS RÁPIDAS SPOT

CRECIMIENTO EN NUEVO AGAR SANGRE

RECuento DE COLONIAS : _____ UFC/mL de orina
 COLORACIÓN GRAM : _____
 HEMÓLISIS : SI () NO () TIPO DE HEMÓLISIS : _____
 CATALASA : POSITIVO () NEGATIVO ()
 CARACTERÍSTICAS DE COLONIAS: _____

PRUEBAS RÁPIDAS SPOT

SPOT INDOL POSITIVO () NEGATIVO ()
 SPOT FAD POSITIVO () NEGATIVO ()
 SPOT UREASA POSITIVO () NEGATIVO ()
 SPOT FOSFATASA POSITIVO () NEGATIVO ()
 SPOT ESCULINA POSITIVO () NEGATIVO ()
 OBSERVACIONES : _____

MICROORGANISMO IDENTIFICADO : _____

II. MEDIO CROMOGENICO (CHROMagar Orientation)

COLOR DE LAS COLONIAS

ROJA () AZUL OSCURO () AZUL TURQUEZA ()
 MARRÓN () ROSADO () OTRO: _____
 RECuento DE COLONIAS : _____ UFC/mL de orina
 OBSERVACIONES : _____

MICROORGANISMO IDENTIFICADO: _____

III. VITEK

RECuento DE COLONIAS : _____ UFC/mL de orina
 COLORACIÓN GRAM : _____
 HEMÓLISIS : SI () NO () TIPO DE HEMÓLISIS : _____
 CATALASA : POSITIVO () NEGATIVO ()
 CARACTERÍSTICAS DE COLONIAS: _____

MICROORGANISMO IDENTIFICADO: _____

RESUMEN DE MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS

I. AGAR SANGRE MODIFICADO Y PRUEBAS RÁPIDAS SPOT : _____
 II. MEDIO CROMOGENICO : _____
 III. VITEK : _____

Anexo 2

Preparación de agar sangre modificado y reactivos para las pruebas rápidas spot

AGAR SANGRE MODIFICADO

Fórmula para 1 litro:

BBL Agar Fenilalanina	23 g
Tryptona	10 g
Agar agar	8 g
Difosfato de fenolftaleína	0,5g
Sangre humana	50 mL

Preparación:

Suspender el agar fenilalanina, la triptona y el agar agar en agua destilada. Mezclar y luego calentar suavemente, hervir de 1 a 2 minutos hasta disolver. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar a 45 - 50 °C, adicionar la sangre humana y el difosfato de fenolftaleína (disolver 0,5g en 10 mL de agua) previamente esterilizado por filtración. Homogenizar y dispensar en placas.

REACTIVO DE INDOL

Fórmula para 100 mL:

HCl 10%	100 mL
PABA	5 g

Preparación:

Añadir el ácido *p*-dimetilaminobenzaldehído (PABA) en el ácido clorhídrico. Mezclar y conservar en frasco de vidrio ámbar.

Uso:

Sobre el papel filtro dispensar una a dos gotas de solución de indol y luego extender las colonias aisladas en el agar sangre modificado. La lectura de la reacción es inmediata.

Resultados:

Reacción positiva: color rojo.

Reacción negativa: no hay cambio de color.

REACTIVO CLORURO FÉRRICO 10%

Fórmula para 100 mL:

Cloruro férrico	12 %
Ácido clorhídrico concentrado	2,5mL
Agua destilada c.s.p.	100 mL

Preparación:

Suspender el cloruro férrico en ácido clorhídrico y adicionar agua destilada. Conservar en frasco de vidrio ámbar.

Uso:

Sobre el papel filtro dispensar una a dos gotas de solución de cloruro férrico y luego extender las colonias aisladas en el agar sangre modificado. La lectura de la reacción es inmediata.

Resultados:

Reacción positiva: color verde.

Reacción negativa: no hay cambio de color.

REACTIVO UREA

Fórmula para 100 mL:

Fosfato potásico	2 g
Urea (20 %)	20 g
Rojo de fenol	0,012 g
Agua destilada c.s.p.	100 mL

Preparación:

Suspender los reactivos en agua destilada. Mezclar y luego esterilizar por filtración. Guardar la solución en refrigeración.

Uso:

Sobre el papel filtro dispensar una a dos gotas de solución del reactivo de urea y luego extender las colonias aisladas del agar sangre modificado. Incubar durante 5 minutos en cámara húmeda y leer la reacción.

Resultados:

Reacción positiva: color rojo.

Reacción negativa: no hay cambio de color.

REACTIVO DE ESCULINA 0,02% (QUALIKEMS Aesculin – C₁₅H₁₆O₉ 1,5H₂O)

Fórmula para 50 mL:

Esculina	0,01 g
Agua destilada c.s.p.	50 mL

Preparación:

Suspender la esculina en agua destilada. Mezclar y luego esterilizar por filtración. Guardar la solución en refrigeración hasta 1 mes.

Uso:

Sobre el papel filtro dispensar una a dos gotas de solución de esculina y luego extender las colonias aisladas del agar sangre modificado. Incubar durante 5 minutos en cámara húmeda y leer la reacción bajo lámpara de luz ultravioleta de 360 nm.

Resultados:

Reacción positiva: ausencia de fluorescencia.

Reacción negativa: presencia de fluorescencia.

REACTIVO HIDRÓXIDO DE SODIO (NaOH) 1N

Fórmula para 1000 mL:

NaOH	40 g
Agua destilada	1000 mL

Preparación:

Suspender el NaOH en agua destilada. Guardar en frasco de vidrio.

Uso:

Sobre el papel filtro dispensar una a dos gotas de solución de NaOH 1N y luego extender las colonias aisladas del agar sangre modificado. La lectura de la reacción es inmediata.

Resultados:

Reacción positiva: color rosa.

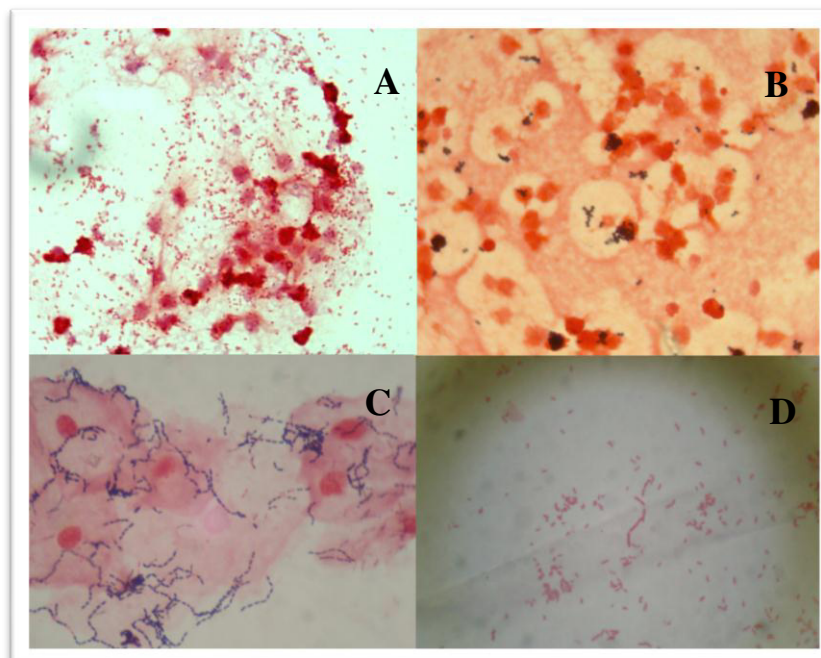
Reacción negativa: no hay cambio de color.

Anexo 3

Pruebas de tamizaje



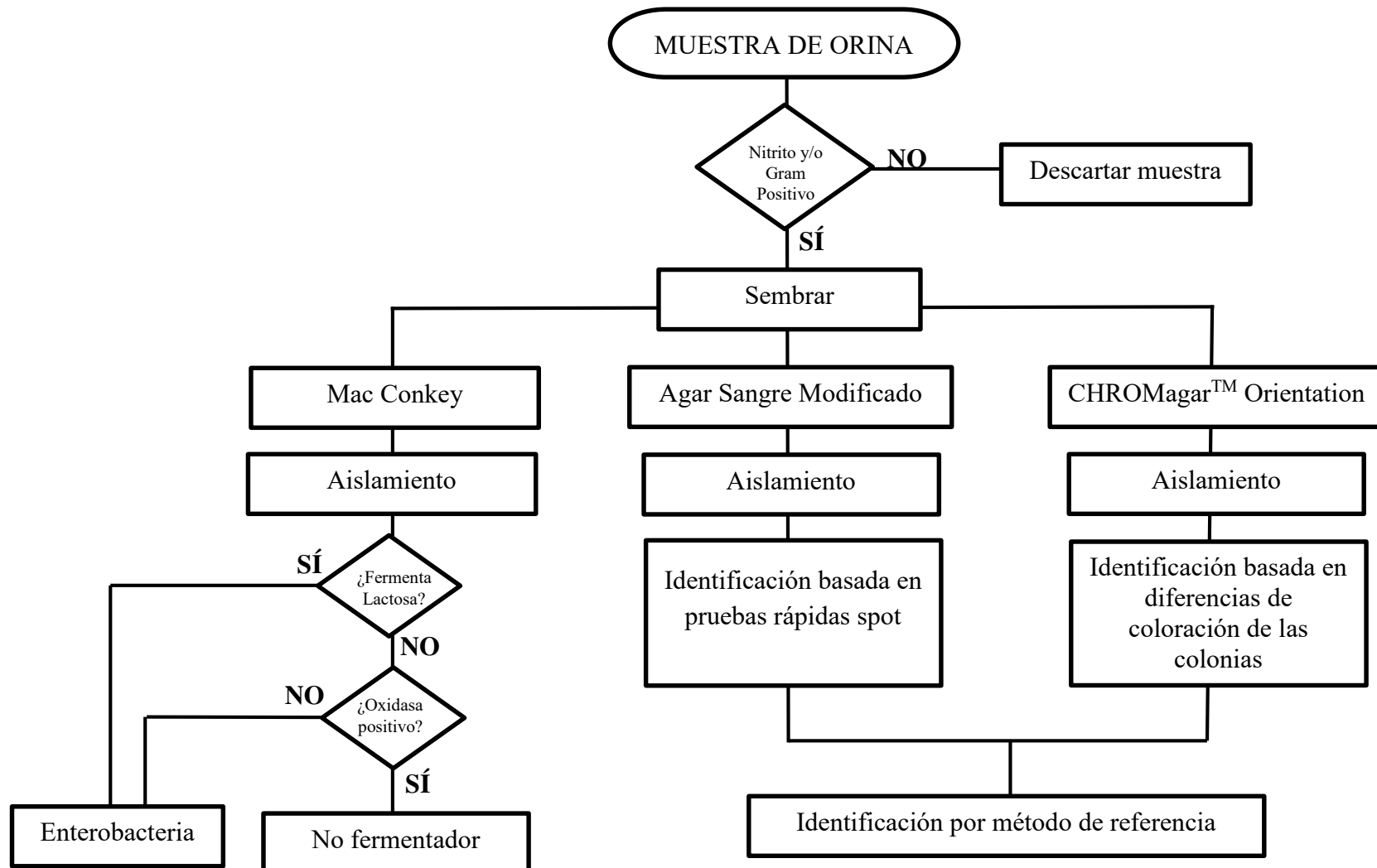
Prueba de nitritos en placa
Reacción positiva: color rojo púrpura



Coloración Gram de orina directa:

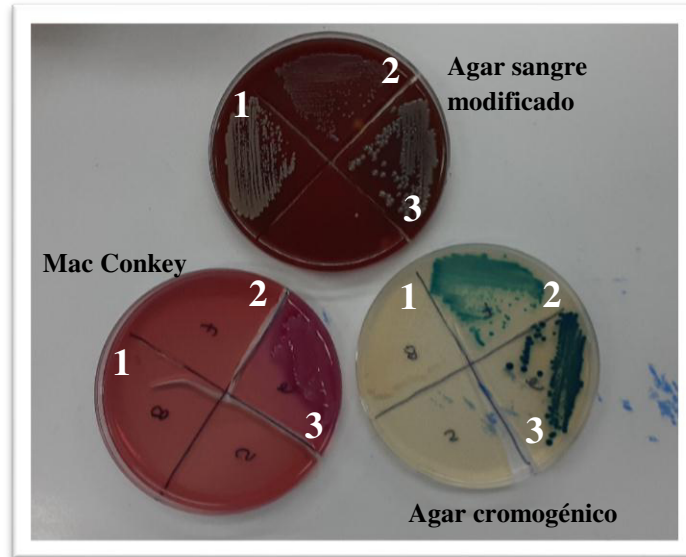
- A: Bacilos Gram negativos, leucocitos
- B: Cocos Gram positivo, leucocitos
- C: Cocos Gram positivo en cadena, leucocitos
- D: Bacilos Gram negativos

Anexo 4
Flujograma de trabajo



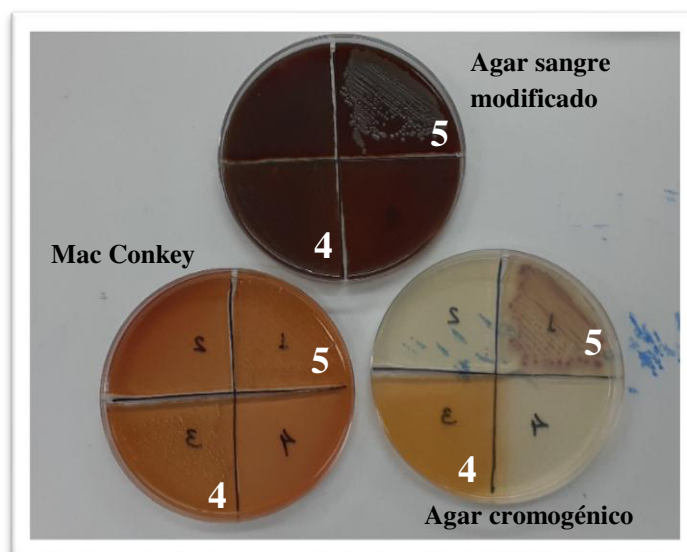
Anexo 5

Placas de agar sangre modificado, agar cromogénico y agar Mac Conkey



Crecimiento de colonias a las 24 horas de incubación:

1. *Staphylococcus saprophyticus*, 2. *Enterococcus faecalis*, 3. *Klebsiella pneumoniae*



Crecimiento de colonias a las 24 horas de incubación:

4. *Proteus mirabilis*, 5. *Escherichia coli*

Anexo 6
Características diferenciales para la identificación de uropatógenos

UROPATÓGENO	Lactosa	Oxidasa	Catalasa	Pruebas Rápidas Spot				
				INDOL	FAD	UREASA	ESCULINA	FOSFATASA
<i>Escherichia coli</i>	+	-	ND	+	-	-	-	ND
<i>Proteus mirabillis</i>	-	-	ND	-	+	+	-	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	ND	-	-	+	+	ND
<i>Enterococcus faecalis</i>	ND	ND	-	ND	ND	ND	+	ND
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	ND	ND	+	ND	ND	+	ND	-

ND: No determinado

Anexo 7

Lima, 20 de agosto de 2020

DR. CARLOS EDUARDO SANTILLAN RAMIREZ
Director General
Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé

Presente.-

Me dirijo a usted para saludarlo muy cordialmente y a la vez hacer de su conocimiento que; Yo, DRA. GISSELLE DIAZ INCA, Jefe del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, **apruebo y autorizo** la ejecución del proyecto de tesis titulado *"Comparación de un agar sangre modificado y pruebas rápidas spot con un medio cromogénico para la identificación presuntiva de uropatógenos – Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé"*, del Bachiller de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica - UNMSM, **Miguel Angel Osorio Jamanca**.

Sin otro particular.

Atentamente

MINISTERIO DE SALUD
HONADOMANI SAN BARTOLOME
.....
GISSELLE H. DIAZ INCA
Médica Patólogo Clínico
CNP 30133 RNE 19414
Jefe(a) del Servicio de Patología Clínica

DRA. GISSELLE DIAZ INCA
Jefe del Servicio de Microbiología
HONADOMANI



Ministerio de
Salud

Hospital Nacional Docente Madre
Niño "San Bartolomé"

Oficina de Apoyo a Docencia
e Investigación



"Año de la Universalización de la Salud"

Lima, 07 de diciembre de 2020

OFICIO N°0540-2020-OADI-HONADOMANI-SB

Licenciado

MIGUEL ANGEL OSORIO JAMANCA

Investigador principal

Presente.-

Expediente N°08707-20

Tengo el agrado de dirigirme a usted para saludarlo cordialmente y en relación al Proyecto de Tesis titulado:

"COMPARACIÓN DE UN AGAR SANGRE MODIFICADO Y PRUEBAS RÁPIDAS SPOT CON UN MEDIO CROMOGENICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE UROPATÓGENOS- HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE NIÑO "SAN BARTOLOMÉ".

Al respecto se informa lo siguiente:

El planteamiento del tema, la metodología estadística propuesta, así como el plan de análisis de los resultados a obtener son apropiados para el estudio

Conclusión:

El Comité Investigación del HONADOMANI San Bartolomé y el Comité Institucional de Ética en Investigación, aprueban de manera expedita el proyecto de Investigación con Exp. N°08707-20.

Hago propicia la oportunidad para renovar los sentimientos de nuestra consideración y estima personal.

Atentamente.

MINISTERIO DE SALUD
Hospital Nacional Docente Madre Niño
"SAN BARTOLOMÉ"

MC. HUGO DELGADO BARTRA
Jefe de la Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación



HDB/vma
cc. archivo

Av. Alfonso Ugarte 825 4to piso/Lima Perú

Teléfono 2010400 anexo 162



INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

El operador del software TURNITIN y revisor que suscribe, autorizado por el Director de la Escuela Profesional de Tecnología Médica Mg. Paredes Arrascue, José Antonio, hace constar que:

La tesis para optar el título profesional de Licenciado(a) en Tecnología Médica, en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica,

Titulada:

"Comparación de un agar sangre modificado y pruebas rápidas spot con un medio cromogénico para la identificación presuntiva de uropatógenos – Hospital Nacional Docente Madre Niño "San Bartolomé"

Autor: Osorio Jamanca, Miguel Angel

Presentó solicitud de evaluación de originalidad el 28 de julio del 2020 y el 29 de julio del 2020 (UTC-0700) se aplicó el programa informático de similitudes en el software TURNITIN con **Identificador de la entrega N°: 1363649676**

En la configuración del detector se:

- Excluyó textos entrecomillados.
- Excluyó bibliografía.
- Excluyó cadenas menores a 40 palabras.
- Excluyó anexos.

El resultado final de similitudes fue del 9 %, según descripción adjunta.

EL DOCUMENTO ARRIBA SEÑALADO CUMPLE CON LOS CRITERIOS DE ORIGINALIDAD

Operador del software el profesor: Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas.

Lima, 29 de julio de 2020.


Dr. MIGUEL H. SANDOVAL VEGAS
PROFESOR PRINCIPAL
FACULTAD DE MEDICINA - UNMSM